

---

**EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE**  
**Metodi di studio e applicazioni in sanità pubblica**

Environmental Epidemiology  
A Textbook on Study Methods and Public Health Applications



---

# **Epidemiologia ambientale**

## **Metodi di studio e applicazioni in sanità pubblica**

traduzione in lingua italiana di:  
**Environmental Epidemiology**  
**A Textbook on Study Methods and Public Health Applications**

Edizione preliminare  
WHO/SDE/OEH/99.7  
English  
Distr.: Limited

A cura di

Dean Baker  
Tord Kjellström  
Rebecca Calderon  
Harris Pastides

WHO (World Health Organization)  
in collaborazione con  
USEPA (United States Environmental Protection Agency)



World Health Organization  
Sustainable Development  
and Healthy Environments



**ARPAT**



United States Environmental  
Protection Agency

Firenze, giugno 2004

**Epidemiologia ambientale**  
**Metodi di studio e applicazioni in sanità pubblica**

Titolo originale:  
Environmental Epidemiology  
A Textbook on Study Methods and Public Health Applications

Preliminary Edition

© World Health Organization, 1999

Stampato a Malta da Interprint Ltd

I punti di vista espressi in questa pubblicazione sono quelli degli autori/collaboratori, sotto la loro responsabilità

Questo documento è stato preparato col supporto di USEPA, United States Environmental Protection Agency (n° accordo CR 821793 -01-0). Per quanto i contenuti di questo testo siano stati approvati dallo staff dell'Agenzia, questi non sono stati sottoposti ad una revisione formale da parte dell'Agenzia stessa. Non ne rappresentano dunque necessariamente l'orientamento e non si devono intendere come ufficialmente riconosciuti.

Questa traduzione è pubblicata col permesso dell'Organizzazione Mondiale della Sanità

**Traduzione italiana:**

© ARPAT, 2004

Coordinamento editoriale: Silvia Angiolucci, ARPAT

Redazione: Silvia Angiolucci, Gabriele Rossi, ARPAT

Segreteria organizzativa e scientifica: Danila Scala, ARPAT

Revisione scientifica: Fabio Barbone, Università degli Studi di Udine

Realizzazione editoriale: Litografia I.P., Firenze

Copertina: ALTA srl

Finito di stampare nel mese di giugno 2004 su carta non trattata con cloro

### **Autori e collaboratori \***

Dean Baker (3, 5 ,6, 8)

Bert Brunekreef (4)

Rebecca Calderon (10, 11)

Ruth Etzel (5)

Jack Griffith (5, 11)

Chuan Jie Hong (8)

Barry Johnson (10, 11)

Tord Kjellström (1, 2, 12)

Michal Krzyzanowski (8)

Harris Pastides (9,12)

Neil Pearce (3, 7)

Göran Pershagen (2)

Carlos Santos-Burgoa (2)

Eugene Schwartz (5, 8)

Colin Soskolne (2, 8)

Elma Torres (8)

\* Il testo è stato rivisto in corso di editing.  
I numeri indicano i capitoli ai quali gli autori hanno dato un sostanziale contributo

## **Traduzione italiana \***

Francesco Baron, Claudia Visentin (1, 2, 10)  
*ARPA Veneto, Direzione Generale, Staff Ambiente e Salute*

Ennio Cadum, Giovanna Berti (6) e Federica Vigna Taglianti (9)  
*ARPA Piemonte, Area di Epidemiologia ambientale*

Giuliano Cotti (5, 11)  
*ARPA Emilia Romagna, Struttura tematica di Epidemiologia ambientale*

Aldo De Togni (8)  
*AUSL Ferrara, U.O. Epidemiologia, Dipartimento Sanità pubblica*

Maria Edoarda Fava, Giuliano Silvi (3, 12)  
*AUSL Ravenna, Epidemiologia e Comunicazione*

Letizia Ferrara, Mauro Mariottini (7)  
*ARPA Marche, Servizio Epidemiologia ambientale*

Danila Scala (4, 11)  
*ARPA Toscana, A.F. Epidemiologia ambientale*

Revisione scientifica della traduzione a cura di:

Fabio Barbone  
*Istituto di Igiene ed Epidemiologia, DPMSC, Università degli Studi di Udine*

Si ringraziano per la collaborazione

Paolo Lauriola e Elena Marchi, *ARPA Emilia Romagna*  
Silvia Saporì, *ARPA Toscana*

\*I numeri tra parentesi indicano i capitoli tradotti

## **Ringraziamenti**

Questo testo è stato elaborato con il sostegno dei componenti dell'Office of Global and Integrated Environmental Health dell'OMS. Finanziamenti e altri supporti sono stati forniti dall'Environmental Protection Agency degli Stati Uniti (USEPA).

Sebbene non ufficialmente in commissione editoriale, hanno dato un contributo sostanziale:

Carlos Corvalán  
Eugene Schwartz  
Colin Soskolne

Jacqueline Sawyer, dell'Office of Global and Integrated Environmental Health, ha dato un valido contributo come curatore per quanto riguarda la parte tecnica e terminologica.

Hanno rivisto e contribuito sostanzialmente alla stesura dei testi:

Donna Baird  
Patricia Buffler  
Germán Corey  
Douglas W. Dockery  
Philip Landrigan  
Ken Sexton

I capitoli 3 e 7 di Neil Pearce sono stati realizzati in parte durante un Senior Research Fellowship al Health Research Council (Nuova Zelanda) e in parte durante un Visiting Scientist Award all'International Agency for Research on Cancer.

La revisione finale e l'editing sono stati coordinati da Dean Baker, University of California, Irvine, del Center for Occupational and Environmental Health (COEH). Il Centro ha fornito una sostanziale assistenza al Dott. Baker durante il processo editoriale. Stacey Kojaku ha prestato assistenza tecnica per l'editing e la predisposizione delle immagini.





## INDICE

<b>Prefazione</b>	11
<b>Introduzione all'edizione italiana</b>	13
Alessandro Lippi, <i>Direttore generale ARPAT</i>	
<b>1 Che cos'è l'epidemiologia ambientale?</b>	19
1.1 Ruolo dell'epidemiologia nella gestione dell'igiene ambientale	19
1.2 Storia e sviluppo dell'epidemiologia ambientale	24
1.3 Principi base di igiene ambientale	26
1.4 Epidemiologia ambientale e scienze correlate	28
1.5 Applicazione dei principi di epidemiologia ambientale nel vostro lavoro	31
<b>2 Il contesto dell'epidemiologia ambientale</b>	33
2.1 Il contesto degli studi di epidemiologia ambientale	33
2.2 Base biologica dell'epidemiologia ambientale	39
2.3 Individui e popolazioni da studiare	45
2.4 Etica nell'epidemiologia ambientale	47
2.5 Decidere se intraprendere uno studio epidemiologico	51
<b>3 Riepilogo dei principi epidemiologici</b>	55
3.1 Concetti di popolazione	55
3.2 Misure di salute nelle popolazioni	57
3.3 Confronti e associazioni	61
3.4 Validità (errore sistematico, bias e confondimento)	65
3.5 Precisione (errore casuale, attendibilità statistica)	71
3.6 Criteri per la causalità	74
<b>4 Valutazione dell'esposizione</b>	77
4.1 Concetti relativi alla valutazione dell'esposizione	77
4.2 Matrici e scenari di esposizione	85
4.3 Tecniche di misura dell'esposizione	95
4.4 Tecniche di modellizzazione dell'esposizione	103
4.5 La variabile esposizione in uno studio epidemiologico	107
<b>5 Valutazione degli effetti sanitari</b>	113
5.1 Nozioni di misura degli effetti sanitari	113
5.2 Tecniche di misura degli effetti sulla salute	119
5.3 Aspetti metodologici nella valutazione degli effetti sanitari	128
5.4 Effetti sanitari dell'ambiente su organi e apparati	128
5.5 Cancro	138
<b>6 Disegno dello studio e metodi</b>	143
6.1 Concetti basilari del disegno dello studio	143
6.2 Tipi di studio	144
6.3 Aspetti metodologici relativi al disegno dello studio	172
6.4 Strategie nella scelta del disegno dello studio	174

<b>7 Analisi ed interpretazione di uno studio</b>	177
7.1 Approccio all'analisi dei dati	177
7.2 Fondamenti di statistica	178
7.3 Analisi di base dei dati	181
7.4 Analisi stratificate	188
7.5 Analisi multivariata	194
7.6 Trattamento ed analisi della misclassificazione	199
<b>8 Aspetti pratici nell'effettuazione di uno studio</b>	203
8.1 Tappe nell'effettuazione di uno studio	203
8.2 Protocollo dello studio	204
8.3 Consenso informato e aspetti etici	209
8.4 Composizione del gruppo di ricerca	212
8.5 Effettuazione di uno studio	214
8.6 Strumenti per la gestione e l'analisi dei dati	223
8.7 Il contesto dello studio	226
<b>9 Valutazione critica della letteratura in epidemiologia ambientale</b>	233
9.1 Motivazioni per la valutazione critica della letteratura scientifica	233
9.2 Scale numeriche proposte per valutare l'adeguatezza di un articolo scientifico	234
9.3 Valutazione critica della relazione (articolo scientifico) di uno studio	234
9.4 Sistemi alternativi di valutazione della letteratura	238
9.5 Riassumere la letteratura attraverso le metanalisi	239
<b>10 L'epidemiologia ambientale nell'attività della sanità pubblica</b>	243
10.1 Monitoraggio dell'esposizione e sorveglianza della salute	243
10.2 Indagini epidemiche	249
10.3 Aggregazioni (clusters) di malattia	256
10.4 Indagini specifiche sull'impatto sanitario dell'inquinamento locale	256
10.5 Importanza della comunicazione	259
<b>11 Epidemiologia ambientale per la politica e la gestione</b>	263
11.1 Uso delle informazioni epidemiologiche nella politica e nel governo	263
11.2 Valutazione del rischio (risk assessment)	264
11.3 Definizione degli standard	271
11.4 Ruoli potenziali dell'epidemiologia nella politica e nella gestione	274
11.5 Il ruolo dell'epidemiologia nei processi decisionali di igiene ambientale	276
<b>12 Agenda per il futuro dell'epidemiologia ambientale: ricerca, pratica e insegnamento</b>	279
12.1 Proseguire la propria formazione nel campo dell'epidemiologia ambientale	279
12.2 Fonti di informazione	279
12.3 Insegnare epidemiologia ambientale	283
12.4 Obiettivi futuri dell'epidemiologia ambientale	288
<b>Appendice 12.1 Libri e riviste di epidemiologia ambientale</b>	289
<b>Glossario</b>	291
<b>Bibliografia</b>	301

## Prefazione

L'obiettivo di questo libro è quello di essere utilizzato come testo per l'insegnamento in un corso di epidemiologia ambientale. E' stata posta particolare attenzione sui metodi di studio dell'epidemiologia - compresi la valutazione dell'esposizione e degli esiti sulla salute, il disegno e la conduzione dello studio e l'analisi dei dati - come pure sul modo di applicare l'epidemiologia alla gestione dei rischi ambientali per la salute.

All'origine l'idea era quella di fare un aggiornamento del WHO Criteria Document on Environmental Epidemiology del 1983 (WHO, 1983). Invece, quando è stato preparato il primo documento, è risultata evidente la necessità di un libro completamente nuovo, in ragione dei progressi compiuti nei metodi epidemiologici e della crescita di conoscenze sui rischi ambientali per la salute e sulla loro gestione. Numerosi autorevoli ricercatori e professionisti della sanità pubblica hanno fornito contributi, come autori o revisori, durante la preparazione del testo.

Il libro è destinato a un pubblico con precedente formazione o esperienza in igiene ambientale o medicina, oltre ad una formazione equivalente ad un corso di epidemiologia di base ed esperienza nel condurre studi epidemiologici. I primi destinatari sono universitari e ricercatori di istituti nazionali di ricerca in paesi in via di sviluppo, ma il testo è stato scritto comunque in modo da essere comprensibile ad operatori di sanità pubblica con formazione medica ed esperienza in epidemiologia.

Materiali provenienti da questo testo e da *Basic Epidemiology* (Beaglehole *et al.*, 1993) sono stati usati in workshop di epidemiologia ambientale di base, della durata di una settimana, organizzati tramite il World Health Organisation's Global Environmental Epidemiology Network (GEENET) in più di 25 paesi dal 1988 (WHO, 1994).

La maggioranza dei partecipanti a questi workshop era rappresentata da:

- funzionari di sanità pubblica e di medicina (a livello nazionale o provinciale);
- funzionari della protezione ambientale o politici;
- ricercatori di igiene ambientale coinvolti in studi sul campo;
- docenti di sanità pubblica, igiene ambientale o epidemiologia.

Sebbene il testo sia stato concepito per l'uso in corsi intensivi di una o due settimane, alcuni dei capitoli contengono del materiale più avanzato, che può essere presentato, ma non adeguatamente trattato in un corso breve. Tale materiale è stato incluso in modo tale che i lettori possano usare il testo come un riferimento nello svolgimento degli studi. In questo senso il libro potrebbe essere appropriato per l'insegnamento dei metodi di studio in un corso universitario specialistico in epidemiologia ambientale.

Il testo finale è stato curato dal Dr. Dean Baker dell'Università della California, Irvine; è prevista una revisione prima della pubblicazione finale del libro. Il comitato editoriale incoraggia i lettori a fornire commenti, suggerimenti e correzioni tecniche. Comunicazioni possono essere inviate al Dr. Baker al seguente indirizzo:

Professor Dean Baker  
University of California, Irvine  
Center for Occupational and Environmental Health  
Irvine, California 92697-1830 USA  
e-mail: [dbaker@uci.edu](mailto:dbaker@uci.edu)



## Introduzione all'edizione italiana

*Non si devono contare le cose che stanno in relazione, bensì le relazioni.  
Non i termini della relazione, ma le relazioni stesse...*

Gregory Bateson

Che l'ambiente rappresenti uno dei principali determinanti extra-sanitari della salute umana già lo sapeva l'antica medicina ippocratica. Tuttavia, nel corso del XX secolo, l'emergere persino drammatico della questione ecologica ha posto il nesso ambiente-salute al centro di qualunque politica e attività di prevenzione e di promozione della qualità della vita, ovverosia, come a noi piace dire, dello sviluppo salubre e sostenibile.

Nel 1986, con la Conferenza di Ottawa, l'OMS lanciò la parola d'ordine della *promozione della salute* fondandola proprio su una concezione socio-ecologica della salute medesima. Nella *Carta di Ottawa*, che di quella Conferenza rappresentò il documento conclusivo, l'ambiente veniva giustamente indicato come uno dei fattori determinanti della salute medesima, e la protezione dell'ambiente veniva esplicitamente individuata, accanto ad altre (del resto con essa alquanto collegate, quali l'equità sociale, il miglioramento delle condizioni di lavoro, l'educazione, gli stili positivi di vita, la consapevole partecipazione dei cittadini al governo ecodemocratico e salubre del proprio territorio e della propria comunità locale) come una delle modalità strategiche più significative per promuovere il benessere fisico, psichico e sociale (ecologico, appunto) delle popolazioni del mondo. Assumere pienamente, sia sul piano politico che culturale, l'ottica di Ottawa rende necessaria una sempre maggiore integrazione progettuale e operativa tra il sistema della promozione della salute e il sistema della protezione ambientale, al fine di costruire le sinergie necessarie a realizzare piani d'azione congiunti allo scopo di individuare e rimuovere i rischi per l'ambiente e per la salute; integrare le valutazioni d'impatto sull'ambiente e sulla salute con le decisioni comunitarie, produttive, di governo; far diventare lo slogan della qualità della vita (peraltro, sacrosanto) qualcosa più di uno slogan, ovverosia un sistema integrato di informazioni e di indicatori, di comunicazione reciproca tra cittadini/esperti/decisori, di crescita complessiva di una cultura della conoscenza critica, della valutazione partecipata, della programmazione consapevole e sostenibile.

Ad Ottawa, la promozione della salute venne definita come il processo che mette in grado le persone - i cittadini, i lavoratori, i consumatori - di aumentare il controllo sulla propria salute e di migliorarla consapevolmente e attivamente. La salute, in tal senso, diventa un concetto positivo che valorizza le risorse personali e sociali e la sua promozione diventa non una responsabilità esclusiva del settore sanitario, bensì l'obiettivo di uno sviluppo salubre e sostenibile che non può non poggiarsi strategicamente sulla integrazione di molteplici e polifoniche competenze sia istituzionali che culturali. Se davvero, come dice la Carta di Ottawa, le condizioni e le risorse fondamentali per la salute sono la pace, l'abitazione, l'istruzione, il cibo, un reddito, un ecosistema stabile, le risorse sostenibili, la giustizia sociale l'equità, appare insensato e penoso qualunque disegno (circolano ancora, purtroppo) di pansanitarismo che tenda a interpretare la sempre più vasta individuazione di determinanti extra-sanitari della salute come motivazione per chiedere sempre più competenze istituzionali, professionali, finanziarie per il sistema sanitario. Il problema, finalmente cominciamo a capirlo, è un altro: è quello dell'integrazione, tra saperi e poteri, tra competenze istituzionali e competenze culturali, tra conoscenze disciplinari tradizionali e formazione di nuove capacità che pongano la stessa integrazione come una delle proprie peculiari eccellenze (in tal senso va, in Toscana, la fondazione - promossa da Agenzia Regionale di Sanità, Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale, Azienda Ospedaliera Pediatrica Mayer, Associazione Medici per l'Ambiente - della Scuola Internazionale Ambiente Salute, SIAS). Una buona salute, in sostanza, è una risorsa significativa per lo sviluppo sociale, economico e personale, ed è una dimensione importante della qualità della vita. Fattori politici, economici, sociali, culturali, ambientali, comportamentali e biologici possono favorire la salute, ma possono anche danneggiarla. L'azione

della promozione della salute punta a rendere favorevoli questi fattori, di cui l'ambiente è parte sostanziale e di rilevante e crescente importanza.

La promozione della salute, nella Carta di Ottawa, trovava un fondamento significativo nel raggiungimento dell'equità. Ciò comprende, evidentemente, strategie di azione integrata miranti a un ambiente favorevole, alla disponibilità di informazioni, alla crescita formativa ed educativa di abilità personali, professionali e sociali (empowerment) che consentano di fare scelte consapevolmente salubri e sostenibili. Le persone non possono, infatti, raggiungere il loro pieno potenziale di salute se non sono capaci di controllare quei fattori che determinano la loro salute. Ciò significa anche, e la carta di Ottawa lo afferma esplicitamente, che la promozione della salute non è competenza, né istituzionale né culturale, del solo sistema sanitario, bensì richiede un'azione coordinata da parte di tutti i soggetti coinvolti: i governi, il settore sanitario e gli altri settori (ambientali, socio-economici, educativi e così via), le organizzazioni non governative e di volontariato, le autorità locali, l'industria ed i mezzi di comunicazione di massa. La promozione della salute va, dunque, ben oltre i compiti e le competenze dei servizi sanitari. Essa colloca la salute nell'ordine del giorno di coloro che compiono le scelte politiche in tutti i settori e a ogni livello, per renderli più consapevoli delle conseguenze che hanno le loro decisioni sulla salute e per far accettare le loro responsabilità nei confronti della salute. Una politica di promozione della salute richiede che vengano identificati gli ostacoli all'adozione di politiche pubbliche per la salute nei settori non sanitari, e i modi per superarli. Lo scopo deve essere quello di fare in modo che le scelte più salubri siano quelle più facili da realizzare anche per coloro che compiono le scelte politiche. Le nostre società sono complesse e interdipendenti, e non è possibile separare la salute dagli altri obiettivi di governo e di governance. Gli inestricabili legami che esistono tra le persone e il loro ambiente costituiscono la base per un *approccio socio-ecologico alla salute*, fondato su processi di conoscenza-valutazione-decisione integrata e sulla più larga partecipazione attiva, consapevole, critica dei cittadini. Il principio-guida globale per il mondo, e allo stesso modo per le nazioni, le regioni e le comunità, è la necessità di incoraggiare il sostegno e la tutela reciproci: *prendersi cura gli uni degli altri, delle nostre comunità e del nostro ambiente*. Lo dice, testualmente, la Carta, aggiungendo che la conservazione delle risorse naturali in ogni parte del mondo dovrebbe essere enfatizzata come una responsabilità globale. I cambiamenti dei modelli di vita, di lavoro e del tempo libero hanno un importante impatto sulla salute. Il lavoro e il tempo libero dovrebbero essere una fonte di salute per le persone. Il modo in cui la società organizza il lavoro dovrebbe contribuire a creare una società salubre. La promozione della salute non può che fondarsi su condizioni di vita e di lavoro che siano sicure, soddisfacenti, ecologicamente sostenibili. E' dunque essenziale che venga svolta una sistematica valutazione dell'impatto che può avere sulla salute un ambiente in rapida trasformazione, con particolare riguardo alla tecnologia, al lavoro, alla produzione di energia e all'urbanizzazione: tale valutazione deve essere seguita da azioni che garantiscano benefici alla salute delle persone. La promozione della salute agisce, dunque, attraverso una concreta ed efficace azione della comunità nel definire le priorità, assumere le decisioni, pianificare e realizzare le strategie che consentano di raggiungere un migliore livello di salute. Al cuore di tutto ciò vi è il processo che attribuisce un maggior potere alle comunità, vi è il possesso e il controllo da parte delle comunità stesse dei loro sforzi e dei loro destini. Ciò richiede un pieno e continuo accesso alle informazioni, una crescita di partecipazione, un'educazione permanente ai diritti di cittadinanza attiva e critica. Insomma, una rivoluzione della conoscenza e della sua disseminazione di massa.

Il 1986 fu anche, non casualmente, l'anno in cui la *Commissione Bruntland*, istituita dall'ONU per affrontare la questione della crisi ecologica del Pianeta, pubblicò il suo rapporto finale *Il nostro comune futuro*, il quale lanciò il concetto, a mio avviso assai importante (politicamente, eticamente, filosoficamente) di "sviluppo sostenibile" (a noi piace parlare di "sviluppo salubre e sostenibile", anche se, a rigor di termini, il concetto di "salubrità" è già presente in quello di "sostenibilità"). Promuovere la salute (nell'ottica di Ottawa) e promuovere lo sviluppo sostenibile (nell'ottica del Rapporto Bruntland) sono quasi la stessa cosa (il "quasi" è del tutto prudenziale: noi crediamo che siano "esattamente" la stessa cosa). Significativi orientamenti in tal senso, sono venuti in anni più recenti da alcuni importanti documenti comunitari quali:

- la Dichiarazione di Londra (III Conferenza interministeriale “Ambiente e salute”, giugno 1999);
- la Decisione 1296/99 del Parlamento e del Consiglio Europeo per l’adozione di un Programma d’azione per gli stati patologici legati all’inquinamento e al degrado ambientale;
- il VI Programma di azione in materia di ambiente, che dedica il proprio articolo 7 agli “obiettivi e aree di azione prioritaria per l’ambiente, la salute e la qualità della vita”;
- il recentissimo (giugno 2003) Documento della Commissione UE “Strategia europea per l’Ambiente e la Salute”.

A livello nazionale, il PSN 1998-2000 e il Decreto 229/99, con il suo articolo 7-quinquies che indicava nella cooperazione tra i Dipartimenti di prevenzione delle ASL e le ARPA (nel frattempo istituite, nel 1994, a seguito del referendum del 1993 sulla sottrazione dei controlli ambientali dal servizio sanitario) lo strumento attraverso il quale rilanciare, nel nostro Paese, una seria e convinta strategia di sviluppo salubre e sostenibile e, dunque, di reale promozione della salute, individuando innovativamente nella epidemiologia ambientale e nella comunicazione del rischio i due terreni prioritari di integrazione tra ambiente e salute. Per definire concretamente le linee guida dell’integrazione ambiente-salute fu istituita presso il Dipartimento per la Prevenzione del Ministero della salute, nel 2000, una commissione, presieduta dal direttore del Dipartimento medesimo dottor Oleari, largamente rappresentativa del mondo della sanità e di quello della protezione ambientale. Tale commissione, di cui facevano parte anche autorevoli esponenti della sanità e della protezione ambientale della Toscana (e di ARPAT), concluse i propri lavori con la redazione di un documento finale, valutato, da tutti i partecipanti ad essa, di rigoroso e concreto spessore culturale. Purtroppo, tale documento non è mai stato sottoscritto dai due Ministeri di riferimento né si è mai tradotto in indirizzo di governo. Costituisce, comunque, un fatto assai positivo l’attivazione, presso APAT, di un gruppo di lavoro integrato sul tema Ambiente-Salute (attualmente impegnato soprattutto sul tema decisivo degli indicatori) di cui fanno parte anche rappresentanti dei due Ministeri e dal cui consolidamento c’è da sperare possa scaturire anche un rilancio del documento-Oleari o quanto meno una sua rivisitazione, premessa di una sua formale approvazione da parte del governo. Va detto che la costituzione, infine, di tale gruppo di lavoro ha trovato fertile stimolo, dotto sostegno, lungimirante anticipazione nel GEA (il gruppo di lavoro sull’epidemiologia ambientale che le Agenzie avevano costituito, sotto il coordinamento di ARPA Marche, già da qualche anno): nell’ambito del GEA stesso, del resto, è nata anche l’idea della traduzione e pubblicazione italiana del volume che qui stiamo presentando. Nuovi processi integrativi, pur nella colpevole assenza di quelle linee-guida nazionali che l’articolo 7-quinquies del 229/99 prevedeva, sono in movimento: la Conferenza delle Agenzie per la protezione ambientale (quella nazionale così come quelle regionali e delle province autonome di Trento e Bolzano), che si terrà a Genova nel luglio di questo stesso anno e che prevede in programma un’intera sessione dedicata al tema Ambiente-Salute, ne è palese testimonianza nonché fonte di gratificazione per quelle Regioni, e quelle ARPA, che su questo tema, e a fini d’integrazione strategica con il sistema sanitario e non soltanto con esso, hanno fin dall’inizio scommesso, lavorato, investito.

La Toscana, e la sua ARPA, lo hanno fatto, in questi anni, con lungimirante testardaggine: questa stessa pubblicazione, in Toscana e da ARPAT convintamente ancorché faticosamente curata e coordinata, ne è una prova tangibile, così come la partecipazione attiva alla Conferenza OMS di Budapest sul tema “Salute infantile e ambiente”, così come la fondazione della già ricordata SIAS, così come tanti altri protocolli di cooperazione, progetti, costruzioni di reti che sarebbe noioso, oltre che presuntuoso, qui elencare dettagliatamente. Lo hanno fatto, anche e valorosamente, varie altre Agenzie, collaborando più o meno produttivamente e più o meno faticosamente con il Sistema Sanitario e non soltanto con esso: esse sono le stesse che hanno aiutato ARPAT nel produrre questa traduzione e questa pubblicazione: l’Agenzia del Piemonte, quella delle Marche, quella dell’Emilia-Romagna, quella del Veneto, quella della Liguria, quella della Sicilia, quella della Lombardia. Siamo qui, a ringraziarle tutte quante, così come ringraziamo gli operatori, anch’essi di varia provenienza istituzionale e professionale, e mi riferisco in particolare alle due AUSL di Ferrara e Ravenna, che hanno lavorato insieme agli altri alla traduzione del volume (per ARPAT, con grande

impegno, Danila Scala) e, con particolare calore, il professor Fabio Barbone dell'Università di Udine che di tale traduzione ha fatto la complessiva revisione scientifica (il ringraziamento ai bravissimi operatori dell'Articolazione funzionale "Comunicazione e Informazione" di ARPAT-Cedif, e in particolare a Silvia Angiolucci, è ormai rituale, seppur per questo non meno sentito e giustificato).

In sostanza, per tornare alle questioni più generali del legame tra ambiente e salute e alle modalità di affrontarlo nel quadro di una vasta e intelligente strategia di sviluppo salubre e sostenibile, si tratta di mettere in atto processi di **integrazione** (con **partecipazione**, si tratta della "parola magica" del tipo di quella di promozione della salute e dello sviluppo salubre e sostenibile di cui andiamo parlando) tra:

- competenze e culture tecnico-scientifiche distinte ma complementari (sanità, protezione ambientale, educazione, economia, eccetera eccetera),
- politiche settoriali (i decisori politici debbono imparare a integrare le loro scelte),
- politica e "scienza",
- istituzioni (politiche e tecnico-scientifiche) e comunità (l'integrazione come partecipazione, la partecipazione come "motore" dell'integrazione, perché i cittadini sono portatori di problemi e saperi "globali", ancorché "grezzi", mentre politici e "esperti" segmentano le competenze, sia quelle burocratiche che quelle culturali),
- metodi e ambiti strategici di pianificazione territoriale.

Per farlo, servono sostanzialmente due cose, che l'articolo 7-quinquies individuava con lucidità anticipatrice: conoscenza epidemiologica e comunicazione. Indispensabili entrambe e, anzi, reciprocamente indispensabili, poiché senza la conoscenza epidemiologica dei problemi e la sua disseminazione nella comunità non può esserci comunicazione (come dialogo attivo e informato tra i diversi livelli tecnico-scientifici, politici, sociali, associativi, di cittadinanza e così via), ma senza comunicazione la conoscenza epidemiologica rischia di rinunciare a varie e non banali fonti di informazione (quella dei cittadini competenti e partecipanti, quella della percezione sociale del rischio, quella dei - cosiddetti, una volta - "esperti grezzi" e così via). Di tutto questo vasto processo l'epidemiologia ambientale, quale disciplina scientifica e metodica di ricerca e di indagine socio-ecco-sanitaria, è uno strumento necessario ed anzi indispensabile (se non, evidentemente, esaustivo). Nel nostro Paese, nelle sue Università, nei suoi centri CNR, nelle sue Agenzie regionali di sanità, nelle sue ARPA e così via, esistono e lavorano varie eccellenze epidemiologiche, però la diffusione complessiva della cultura epidemiologica (cioè dell'attenzione dedicata al porre continuamente e produttivamente in relazione, a fini prevenzionistici, i dati sanitari con quelli ambientali, con quelli economici e così via) è tutt'altro che soddisfacente: lo dimostra lo scarso interesse manifestato finora da chi di dovere a cercare di integrare modalità di raccolta dei dati, di loro elaborazione e di loro confronto dei diversi e settoriali sistemi informativi presenti (ammesso che si possano davvero considerare tali) in Italia.

Da parte nostra, come già detto su intelligente sollecitazione del GEA e con la collaborazione finanziaria di un gruppo di altre ARPA, abbiamo ritenuto che tradurre, pubblicare e diffondere il "manuale" (per così dire: non esiste in italiano una codificata traduzione dell'anglosassone "textbook") di epidemiologia ambientale dell'OMS potesse risultare cosa utile, per la diffusione tra gli operatori della sanità pubblica così come della protezione ambientale (ma non soltanto: anche tra gli studenti universitari, per esempio), alla crescita di una cultura epidemiologica oggi piuttosto scarsa in Italia ma indispensabile al decollo di un proficuo e permanente modo di lavorare integrato tra i due sottosistemi prevenzionistici del nostro Paese, quello sanitario e quello di protezione ambientale (il modello dei due sotto-sistemi di prevenzione proficuamente dialoganti, anche e soprattutto sotto l'egida dell'epidemiologia, fu con grande intelligenza del futuro proposto a Senigallia, nel 1997, dalla SNOP).

Chiudiamo questa anche troppo prolissa Introduzione richiamando l'attenzione del lettore sull'epigrafe posta all'inizio di essa. Si tratta di una frase di Gregory Bateson, l'epistemologo della "ecologia della mente". In tale frase si enfatizza il ruolo delle relazioni, da considerare non come



qualcosa da costruire dopo che ciascuno ha svolto il proprio compito, cercato e trovato i propri dati, formulato le proprie ipotesi e così via, bensì come modalità nuova (relazionale, giustappunto, ossia integrata e di rete) che precede e orienta e dona valore aggiunto al modo di ciascuno di svolgere i propri compiti, ricercare i propri dati e così via. Fare questo, è usare le categorie dell'ecologia della mente, indispensabile a salvaguardare e valorizzare l'ecologia del mondo. Ci è parso giusto ricordarlo, valorizzando il ruolo relazionale dell'epidemiologia ambientale, nell'anno del centenario della nascita dello stesso Bateson.

*Alessandro Lippi*

## 1 CHE COS'È L'EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE?

### Obbiettivi didattici

- Avere familiarità con le idee base usate per collegare i fattori di rischio ambientale alla salute.
- Essere in grado di descrivere lo sviluppo storico dell'epidemiologia ambientale e fornire esempi dei principali problemi di ambiente e salute per i quali l'epidemiologia ambientale è stata di aiuto nel trovare una soluzione.
- Comprendere il ruolo dell'epidemiologia ambientale nella soluzione dei problemi inerenti la salute e l'ambiente.
- Rendersi conto delle conoscenze di base richieste per poter usare appieno questo testo.
- Rendersi conto della necessità di una formazione in epidemiologia ambientale per eseguire ed interpretare studi di epidemiologia ambientale.

### 1.1 Ruolo dell'epidemiologia nella gestione dell'igiene ambientale

#### Ambiente, sviluppo e salute

Durante gli ultimi 30 anni, la protezione del nostro ambiente è diventata una questione pubblica importante. Negli anni 1950 e 1960, una serie di eventi, comprendenti il caso dello smog di Londra, la malattia di Minamata e la malattia Itai Itai, che sono stati associati a fattori ambientali, ha condotto l'attenzione sull'importanza della protezione ambientale durante lo sviluppo industriale e urbano. La pubblicazione di numerosi testi chiave, come *Silent Spring* (Carson, 1962), aumentò ulteriormente il livello di consapevolezza del problema. Verso la fine degli anni '60, si formarono gruppi locali e nazionali che agirono a livello di comunità per promuovere la protezione dell'ambiente riuscendo infine a introdurre tale attività a livello internazionale. I governi riconobbero il loro dovere di rispondere con un'azione visibile e collaborarono alla realizzazione della UN Conference on the Human Environment, tenutasi a Stoccolma nel 1972. Uno dei contributi dell'OMS a questa conferenza è stato il primo compendio degli effetti dell'ambiente sulla salute umana (WHO, 1972).

A partire dalla conferenza di Stoccolma, la necessità della protezione dell'ambiente e la consapevolezza dei collegamenti fra protezione ambientale e salute umana sono cresciute considerevolmente. Importanti iniziative a livello internazionale hanno fornito nuovo impulso alla protezione della salute umana e dell'ambiente, e hanno portato alla creazione di nuove infrastrutture per la collaborazione internazionale. L'United Nations Environment Programme (UNEP), ad esempio, è entrato in attività fin dal 1972, e nel 1980 è stato istituito l'International Programme for Chemical Safety (IPCS). Più recentemente, (1987) il lavoro della World Commission on Environment and Development (la Commissione "Brundtland") ha fatto sì che il termine "sviluppo sostenibile" sia diventato un concetto familiare.

#### Box 1.1

"Sviluppo sostenibile" è lo sviluppo che soddisfa le necessità del presente senza compromettere la capacità delle generazioni future di soddisfare i propri bisogni.

Fonte: World Commission on Environment and Development, 1987.

Il coinvolgimento crescente dell'OMS nei problemi ambientali è stato dimostrato dalla revisione (WHO, 1992d) degli impatti dei fattori ambientali sulla salute umana da parte della sua Commission on Health and Environment. Questa revisione è stata un contributo importante all'United Nations Conference on Environment and Development (UNCED) tenuta a Rio de Janeiro nel 1992. UNCED ha prodotto un programma per un'azione futura inerente l'ambiente e i problemi di sviluppo - *Agenda XXI* - (UN, 1992), con uno dei capitoli principali dedicato alla protezione della salute umana e con riferimenti alle problematiche della salute fatti in molti degli altri 39 capitoli. Presso le Nazioni Unite è stata pure avviata una nuova struttura di coordinamento intergovernativo per Agenda XXI, la

Commission for Sustainable Development (CSD). L'OMS è il soggetto di riferimento per le problematiche sanitarie nelle attività del CSD di monitoraggio della realizzazione dell'Agenda XXI. Una relazione che riassume questi problemi, intitolata *Health and Environment in Sustainable Development* (WHO, 1997) è stata preparata per la Sessione Speciale dell'Assemblea Generale delle Nazioni Unite nel 5° anniversario di UNCED.

La gestione dell'igiene ambientale comporta la massima riduzione possibile dei rischi per la salute derivati dall'ambiente, per ogni comunità o popolazione. In questo testo, le definizioni di pericolo e di rischio sono quelle stabilite dal gruppo di lavoro dell'OMS (WHO, 1989). Un **fattore di rischio** (hazard) è una fonte di danno o un agente che può danneggiare la salute umana (nozione qualitativa); il **rischio** (risk) è la probabilità che il danno alla salute avvenga (nozione quantitativa). Per ridurre i rischi per la salute collegati ai fattori di rischio, dobbiamo cercare informazioni su:

- i fattori di rischio che si trovano in determinati ambienti;
- i gruppi di popolazione che sono esposti;
- il livello a cui essi sono esposti;
- gli impatti sulla salute che questi fattori potrebbero avere o hanno;
- i potenziali approcci per ridurre l'esposizione;
- l'accettabilità di questi approcci nella popolazione esposta (vedi Figura 1.1).

In questo testo, l'ambiente è stato definito come: “ tutto ciò che è esterno all'ospite umano, che può essere suddiviso in fisico, biologico, sociale, culturale ecc., una parte del quale o tutto insieme può influenzare lo stato di salute delle popolazioni” (Last, 1995).

L'ambiente può essere considerato come rappresentativo di uno o più dei seguenti ambiti:

- l'ambiente domestico: l'esposizione può essere determinata, fra gli altri fattori, da abitudini alimentari personali o familiari, dalle attrezzature per cucinare, dall'acqua potabile e dagli impianti sanitari, dal tipo di edificio (luogo ove trovare riparo), dall'attività industriale o agricola eseguita in o intorno alla casa, dagli *hobbies*, dai pesticidi applicati in casa e in giardino;
- l'ambiente di lavoro: una persona può passare una larga parte della sua vita in un ambiente lavorativo, come una miniera di carbone o un'acciaieria, che può comportare specifici problemi ambientali e tipi di esposizione; il tempo passato nelle scuole o altre istituzioni educative può pure essere considerato appartenente a questo ambito;
- l'ambiente comunitario (locale): una persona può essere esposta a inquinamento dell'aria causato dal traffico, dall'industria locale o dal riscaldamento domestico, a sostanze chimiche che fuoriescono da una discarica locale di rifiuti o al rumore da traffico - nelle immediate vicinanze del luogo in cui essa vive;
- l'ambiente in senso più lato: questo può riferirsi all'ambiente su scala regionale, nazionale, internazionale o globale; esposizioni associate includono inquinamento fotochimico dell'aria, inquinamento dell'acqua dei fiumi e del mare, inquinamento da radiazioni da incidenti nucleari, esposizione a radiazioni ultraviolette come risultato della deplezione di ozono stratosferico e mutamenti nelle malattie trasmesse da vettori dovuti al cambiamento climatico globale.

**Figura 1.1 Fasi della valutazione e della gestione del rischio ambientale a fini sanitari**

## **Risk Assessment**

1. **Identificazione del rischio**  
(Quali effetti sulla salute può causare l'agente?)
2. **Valutazione dose-risposta**  
(Quale è la relazione fra la dose e l'incidenza di effetti nell'uomo?)
3. **Valutazione dell'esposizione**  
(Quali esposizioni si verificano o si prevedono sotto differenti condizioni?)

4. **Caratterizzazione del rischio**  
(Qual è l'incidenza stimata dell'effetto avverso in una data popolazione?)

## **Risk Management**

5. **Valutazione del rischio**  
(Come si colloca il rischio rispetto a standard o linee guida?)
6. **Percezione e comunicazione del rischio**  
(Qual è la percezione e l'accettazione del rischio della comunità?)
7. **Controllo dell'esposizione**  
(Quali metodi sono utilizzabili per controllare il rischio e l'esposizione?)
8. **Monitoraggio del rischio**

*Fonte: modificato da Yassi, 1998*

Spesso il termine ambiente in senso lato è usato per identificare tutti gli ambienti non di lavoro (casa, comunità o spazio più ampio). Comunemente un ambiente può essere delineato da confini geografici, pertanto le attività di gestione ambientale possono focalizzarsi su individui dispersi su un'ampia area, su gruppi che vivono o lavorano assieme o sulla popolazione di una definita area o paese.

I determinanti della salute che non attengono all'ambiente come definito precedentemente sono: fattori genetici, fattori basati su stili di vita e comportamenti (coinvolgenti chiare scelte individuali, ad es. fumare o assumere alcool) e fattori iatrogeni (esposizioni causate da interventi medici). Le distinzioni sono talvolta arbitrarie. Ad esempio, l'esposizione dei fumatori al fumo di sigaretta è considerata un fattore inerente lo stile di vita, mentre l'esposizione al fumo di sigaretta derivante da un'altra persona che fuma è considerato un fattore ambientale (ed è abitualmente chiamato fumo passivo).

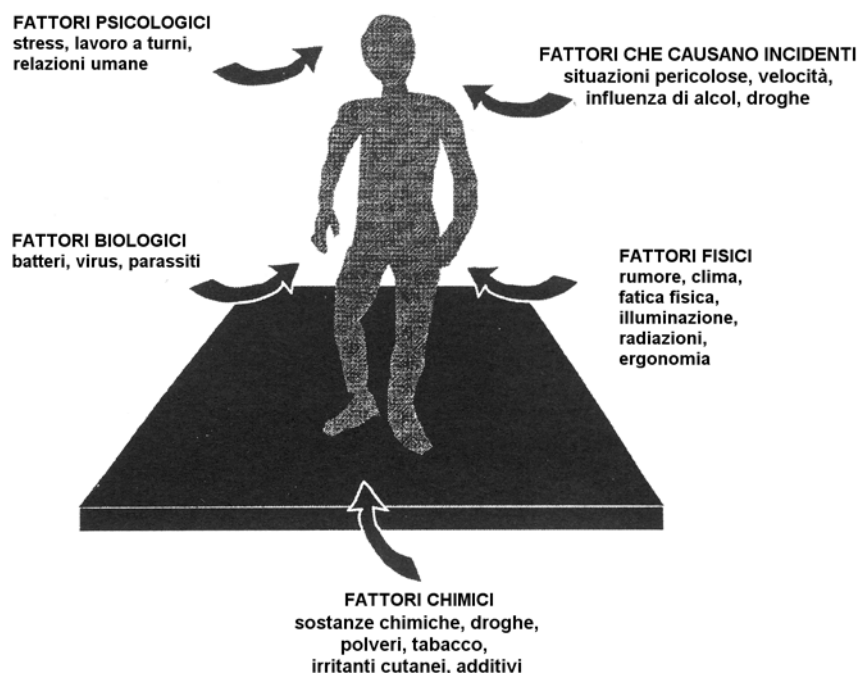
### **Epidemiologia come collegamento fra fattori di rischio, effetti sulla salute e prevenzione**

L'epidemiologia è uno dei più importanti strumenti usati nella gestione dell'igiene ambientale per la sua capacità di valutare i fattori di rischio ambientale come potenziale causa di malattia e di quantificare il loro impatto sulla salute nella popolazione a rischio. Essa fornisce pertanto l'informazione necessaria per definire le priorità per l'azione preventiva e può anche contribuire al monitoraggio e alla valutazione dell'efficacia di tale azione. In breve, l'epidemiologia è cruciale per risolvere i problemi di salute inerenti l'ambiente.

L'epidemiologia è definita come: "lo studio della distribuzione e dei determinanti di stati o eventi correlati alla salute in specifiche popolazioni, e l'applicazione di questo studio al controllo dei problemi sanitari" (Last, 1995). L'epidemiologia pertanto comprende non solo gli studi, ma anche la valutazione di come vengono usati i risultati degli studi epidemiologici.

L'epidemiologia ambientale si focalizza sui fattori di rischio ambientale come determinanti. Questi possono essere classificati in molti modi, a seconda delle loro caratteristiche o fonti - biologici, chimici, fisici, psico-sociali o correlati alla sicurezza (vedi Figura 1.2). I metodi presentati in questo testo possono essere applicati a tutti questi fattori anche se, poiché ciascun paese o località ha la sua propria particolare combinazione di fattori di rischio ambientale, devono essere elaborati specifici progetti di studio per collegare fattori di rischio, effetti e prevenzione, adattandoli alle condizioni locali. Dato che qui l'interesse è sulle indagini epidemiologiche mirate all'impatto sulla salute di "moderni" tipi di inquinamento ambientale, molti degli esempi usati si riferiscono agli agenti chimici.

**Figura 1.2 Fattori ambientali che possono influenzare la salute**



*Fonte: Beaglehole et al., 1993*

Gli specifici metodi per valutare lo stato dell'igiene ambientale di una località e minimizzarne i rischi per la salute sono vari. Comunque, gli approcci epidemiologici per studiare e analizzare i rischi per la salute hanno una parte fondamentale in comune. Ad esempio, se un'epidemia di malattia diarroica avviene in una grossa scuola, la causa più probabile sarà la contaminazione dell'acqua potabile e/o del cibo consumato nella scuola stessa. Possibili vie di trasmissione potrebbero essere identificate confrontando i bambini colpiti e i bambini non colpiti, con riguardo a ciò che essi hanno mangiato e bevuto (approccio caso-controllo). I generi alimentari o l'acqua potabile sospettati potrebbero essere analizzati sulla base delle conoscenze esistenti sul tipo di agenti che causano diarrea. Fino a questo punto, l'approccio è lo stesso, sia che un fattore biologico, quale una salmonella nel cibo, o un fattore chimico, come rame o cadmio nell'acqua potabile, siano la causa sospettata.

Ulteriori indagini possono includere l'analisi dell'acqua potabile o del cibo sospetti, usando metodi specifici per ciascun fattore di rischio, ma l'analisi epidemiologica dei risultati sarebbe simile. Il fatto che gli agenti biologici possano diffondersi da una persona infetta a un'altra avrebbe influenza su alcuni ulteriori passaggi dell'indagine epidemiologica. Se i membri della famiglia non frequentanti la scuola sviluppassero diarrea pochi giorni dopo l'epidemia originaria, un fattore di rischio biologico sarebbe la causa probabile (se l'avvelenamento fosse su base chimica, tale caso secondario non comparirebbe). Azioni preventive, nel caso di rischio biologico, includerebbero misure igieniche per proteggere i membri della famiglia dall'infezione secondaria. Sarebbe richiesta quindi un'indagine sulla fonte dei batteri nell'area della cucina della scuola e dovrebbero essere rivisti i metodi usati per cucinare e conservare i cibi. Nel caso di un contaminante chimico, la contaminazione originale probabilmente sarebbe avvenuta durante la produzione delle materie prime al di fuori della scuola o durante la conservazione in contenitori. L'azione di follow-up pertanto varierebbe a seconda che si sia cercato di eliminare l'infezione causata da batteri o l'avvelenamento causato da contaminanti chimici. L'epidemiologia, mostrando se il quadro della malattia è coerente con una fonte unica di contaminazione o con una trasmissione da persona a persona, stabilisce pertanto un collegamento tra fattore di rischio ed effetto, che è essenziale quando si concepiscono azioni preventive.

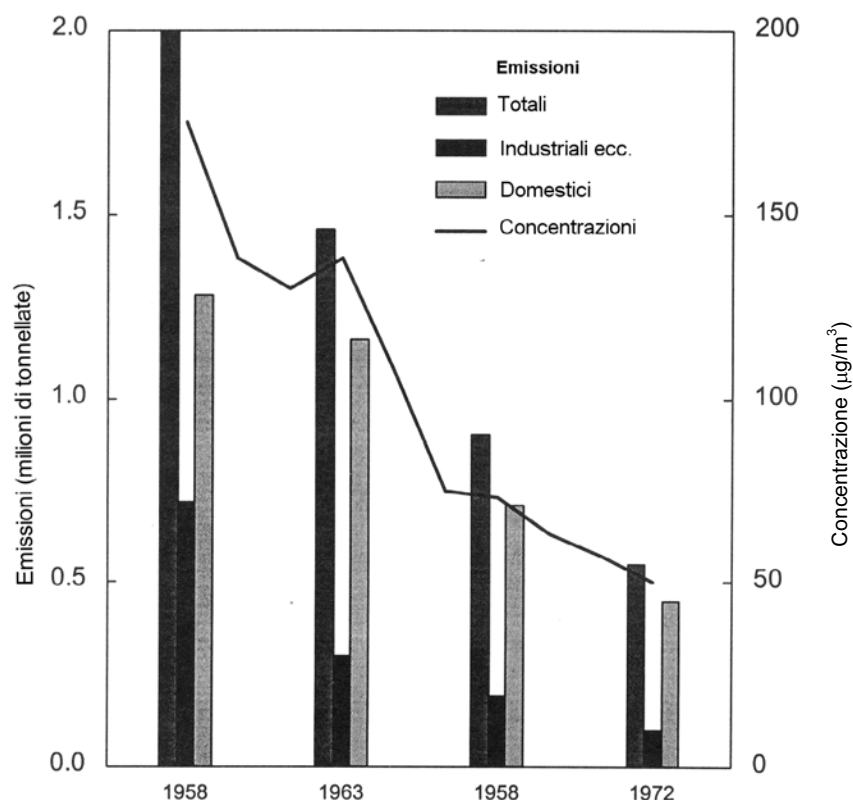
Il fatto di aver individuato un legame fra il grave inquinamento dell'aria a Londra nel 1952 e l'aumentata mortalità dovuta a malattie polmonari e cardiache è un altro esempio di applicazione dell'epidemiologia alla gestione dell'igiene ambientale (United Kingdom Ministry of Health, 1954). L'analisi epidemiologica di questo episodio di inquinamento portò a una continua riduzione delle polveri e dell'inquinamento da biossido di zolfo derivanti dalla combustione del carbone attraverso l'istituzione di "zone senza fumo" e la progressiva introduzione di dispositivi per il controllo dell'inquinamento dell'aria in impianti industriali e centrali elettriche (Figura 1.3). Queste azioni non sarebbero state intraprese se lo studio iniziale non avesse dimostrato il legame tra inquinamento dell'aria e malattia. Recentemente, una rianalisi dei dati sulla mortalità e sull'inquinamento atmosferico del Regno Unito e degli USA ha dimostrato che anche bassi livelli di polveri e di inquinamento atmosferico da biossido di zolfo influenzano la mortalità (Schwartz & Marcus, 1990). Queste analisi epidemiologiche hanno dato avvio alla revisione degli standard di qualità dell'aria e alla richiesta di standard più restrittivi.

### Epidemiologia ambientale

Come indicato nel Box 1.2, l'epidemiologia ambientale è il settore dell'epidemiologia che si occupa specificatamente di esposizioni ambientali. Una prima serie di linee guida sull'epidemiologia ambientale è stata prodotta dall'OMS nel 1983 (WHO, 1983). Spesso, l'ambiente domestico, comunitario, l'ambiente in generale, come pure l'ambiente del luogo di lavoro sono compresi tutti insieme, ma alcuni ricercatori separano l'epidemiologia occupazionale (ambiente del luogo di lavoro) dalla epidemiologia ambientale. In questo libro ci focalizziamo sull'ambiente non lavorativo.

L'epidemiologia ambientale può essere definita come: *lo studio della distribuzione degli stati o eventi correlati con la salute in specifiche popolazioni in relazione a determinanti/ fattori di rischio nell'ambiente di vita di queste popolazioni, e l'applicazione di questo studio al controllo di tali fattori di rischio.*

**Figura 1.3 Riduzione dell'inquinamento da biossido di zolfo derivante dalla combustione di carburanti nel Regno Unito, dal 1958 al 1972**



Fonte: Weatherley, 1976

L'epidemiologia ambientale rende necessaria l'applicazione dei concetti e dei metodi di molte discipline scientifiche, comprendenti chimica, meteorologia, microbiologia e fisica (per stabilire i livelli di esposizione umana). Utilizza pure elementi di medicina clinica, biochimica e fisiologia (per stabilire gli impatti sulla salute). Applicando metodi statistici e matematici, l'epidemiologia ambientale integra le informazioni raccolte attraverso le altre scienze. L'interpretazione di queste informazioni a fini preventivi è uno degli aspetti di maggior impegno e importanza dell'epidemiologia ambientale.

Dovrebbe essere fatto notare che in tutti gli studi epidemiologici può essere necessario prendere in considerazione vari fattori che influenzano la salute, dato che ciascuno di essi può contribuire in modo indipendente all'origine della malattia in questione. Gli studi di epidemiologia ambientale, pertanto, non possono ignorare l'esposizione a fattori riguardanti lo stile di vita, quali fumo di tabacco, fattori alimentari, malattie concomitanti o condizioni non direttamente o affatto correlate con l'ambiente. I fattori che non sono oggetto di interesse diretto dello studio vanno trattati come "confondenti". Non di rado, infatti, una parte considerevole degli sforzi in uno studio di epidemiologia ambientale è diretta a misurare fattori non ambientali.

#### **Box 1.2 Caratteristiche dell'epidemiologia ambientale**

L'epidemiologia ambientale:

- si occupa degli effetti dannosi sulla salute da esposizioni a fattori ambientali (principalmente biologici, fisici, chimici)
- integra le informazioni sull'esposizione e sugli effetti sulla salute, come pure altre informazioni derivanti da varie discipline (quali tossicologia, chimica, ecologia, audiologia, biologia delle radiazioni, medicina clinica, ingegneria sanitaria, ingegneria ambientale, igiene industriale, meteorologia, geografia fisica e sociale, acustica, statistica e demografia)
- non è solo una serie di metodi per condurre studi epidemiologici, ma una "strategia mentale" per affrontare il compito di protezione delle persone dai fattori di rischio ambientale
- rappresenta un collegamento fra conoscenza e azione mirata a proteggere la salute.

### **1.2 Storia e sviluppo dell'epidemiologia ambientale**

L'epidemiologia ambientale apparve per la prima volta quando medici e filosofi greci e romani percepirono collegamenti fra le caratteristiche dell'ambiente circostante e la cattiva salute. Ciò nonostante, non è stato che molto più tardi che questi collegamenti furono valutati quantitativamente. I primi esempi di approccio quantitativo comprendono la compilazione di liste di persone che vivevano e lavoravano in particolari ambienti e che erano morte per una specifica malattia (per esempio, Bernardino Ramazzini nel XVII secolo descrisse la prima malattia occupazionale) (Ramazzini, 1964, ristampato). Il primo lavoro scientifico che identifica una causa ambientale di cancro è stato realizzato da Sir Percival Pott che ha descritto il cancro dello scroto negli spazzacamini inglesi (Pott, 1775).

Il primo studio epidemiologico è considerato anche il primo studio di epidemiologia ambientale: si tratta dello studio di John Snow sul colera a Londra e la sua correlazione con la fornitura di acqua alle differenti abitazioni (Snow, 1855). L'effetto sulla salute in questo caso era una "malattia infettiva" che si era diffusa a causa della fognatura inadeguata e del deflusso delle acque di scolo nell'acqua di approvvigionamento. L'analisi epidemiologica includeva l'identificazione di dove vivevano le persone colpite. Dato che l'acqua potabile è una tipica via di esposizione ambientale, Snow fu capace di dimostrare chiaramente l'associazione tra la fonte dell'acqua potabile e l'insorgenza di colera. Fu questa un'analisi veramente innovativa, dato che l'esistenza del batterio del colera non era ancora stata scoperta. Lo studio di John Snow mostra anche che, a questo stadio iniziale dello sviluppo

dell'epidemiologia, l'interesse era rivolto all'azione preventiva. John Snow non sapeva perché l'acqua causasse la malattia, ma è chiaro che azioni preventive iniziali possono spesso essere intraprese anche se non è ancora disponibile un'informazione completa sull'agente che è responsabile della malattia. In questo caso particolare, John Snow decise di interrompere l'uso delle fonti di acqua contaminata. Questo intervento ridusse la morbosità e la mortalità dovute alla malattia infettiva molto tempo prima che la causa specifica fosse identificata e prima che fossero sviluppati gli antibiotici e i vaccini.

Attorno all'inizio del XX secolo, alcuni sviluppi nelle conoscenze mediche generali resero più facile l'identificazione delle cause specifiche di malattie ambientali. Kock, per esempio, identificò il ruolo dei batteri sul finire del XIX secolo; i suoi postulati sull'origine della malattia sono ancora usati quando deve essere ricercata la causa di una epidemia. Poi, all'inizio del XX secolo, si dimostrò che l'amianto, il piombo, il mercurio e altre sostanze chimiche pericolose erano collegate a specifiche malattie. L'analisi dei dati era grezza e le conclusioni erano spesso derivate da studi su piccoli gruppi di casi, ma stava diventando abbastanza comune il concetto del fare confronti fra una popolazione esposta e una non esposta.

Dopo la Seconda Guerra Mondiale, numerosi problemi di salute e studi ben pubblicizzati portarono a insistere nuovamente sull'igiene ambientale, e il monitoraggio ambientale ed epidemiologico sono diventate attività ben assestate. Possono essere trovati esempi per tutti i tipi di rischi ambientali, siano essi fisici, chimici, biologici, psicosociali o correlati alla sicurezza. Ad esempio:

- Dopo il lancio delle bombe atomiche a Hiroshima e Nagasaki, fu creato un istituto di ricerca che si occupasse di studi epidemiologici sugli effetti delle radiazioni e per il trattamento delle vittime fu continuamente monitorata la salute delle popolazioni esposte e furono condotti molti progetti di ricerca (Ishimaru & Ishimaru, 1975; Shimizu *et al.*, 1990).
- Nel 1952, un grave inquinamento dell'aria a Londra portò a una drammatica epidemia di decessi per malattie cardiache e polmonari. Fu eseguito uno studio epidemiologico dettagliato (United Kingdom Ministry of Health, 1954) e fu stabilita una relazione quantitativa fra il grave inquinamento dell'aria e gli effetti osservati sulla salute. Il monitoraggio continuo dell'inquinamento atmosferico e della salute a Londra e in altre città del Regno Unito ha dimostrato la necessità del controllo dell'inquinamento dell'aria; successivamente fu emanata la legislazione sul controllo dell'inquinamento atmosferico nel Regno Unito.
- Negli anni '50, studi epidemiologici e tossicologici attribuirono a grave inquinamento industriale due epidemie di malattie non usuali in Giappone. Una di queste è stata la tragicamente famosa "malattia di Minamata" (Minamata è il nome della città dove la malattia si manifestò), causata da consumo di pesce contaminato con metilmercurio (WHO, 1976 e 1990). L'altra è stata la "malattia Itai-Itai" (Itai-Itai, che significa "ahi-ahi", era il termine usato dai pazienti per descrivere il grave dolore di cui essi soffrivano come risultato di fratture ossee multiple), causata dal consumo di riso contaminato con cadmio, associato a malnutrizione (WHO, 1992 a). Gli studi epidemiologici hanno dimostrato che la perdita di calcio durante la gravidanza, e il più basso assorbimento di calcio rispetto all'uomo, rendeva le donne particolarmente vulnerabili alla malattia Itai-Itai. Il monitoraggio dell'ambiente e della salute nelle aree colpite continua ancor oggi.
- La malattia dei Legionari è un esempio di malattia infettiva, la cui causa è stata stabilita con studi epidemiologici. La malattia è stata identificata attraverso l'indagine sulla polmonite epidemica che nel 1976 colpì più di 200 persone e causò 34 decessi durante una Convenzione della Legione Americana in un hotel situato negli Stati Uniti (Fraser *et al.*, 1977). L'agente causale che fu scoperto risultò essere una nuova specie di batterio, conseguentemente chiamato *Legionella pneumophila* in riferimento a questa epidemia (Fraser, 1979). La scoperta di *L. pneumophila* ha portato all'isolamento di organismi correlati che sono ora riconosciuti come una famiglia di batteri costituita da più di 50 specie. Le infezioni da *Legionella* spiegano più del 7 % delle polmoniti acquisite in comunità e più del 30 % di quelle acquisite durante le epidemie ospedaliere.



### 1.3 Principi base di igiene ambientale

La premessa base di ogni indagine epidemiologica ambientale è che l'esposizione a uno o più fattori ambientali può portare ad effetti sulla salute. I due concetti di **esposizione** e di **effetto** sono pertanto parti integranti di ogni studio epidemiologico ambientale. L'esposizione è usata per indicare il contatto che avviene fra il corpo umano e il fattore di rischio ambientale che interessa. L'esposizione può avvenire attraverso: inalazione, ingestione, contatto cutaneo diretto (o contatto oculare), per via ematica transplacentare (da madre a feto) o per iniezione diretta nel corpo (anche se questa può non essere considerata una esposizione ambientale in senso stretto). La quantità dell'agente che è penetrata nel corpo è chiamata **dose**; la dose determina se un individuo esposto manifesta un effetto oppure no. Variazioni genetiche nella popolazione influenzano variazioni nella dose interna e nella "susceptibilità" ad un effetto. Questa variazione genetica produrrà una variabilità nella distribuzione della dose in un tipico sottogruppo della popolazione, anche se i membri della popolazione hanno esposizioni simili (il Capitolo 2 tratta più approfonditamente i principi dell'esposizione e il Capitolo 4 descrive le tecniche di misura dell'esposizione negli studi epidemiologici).

In questo libro il termine **effetto** è usato come una descrizione generica di ogni cambiamento nello stato di salute o funzione corporea che si può dimostrare dovuto ad esposizione a un rischio ambientale. Questo termine può essere applicato a un individuo come pure a un cambiamento nell'esperienza media di una popolazione. Alcuni epidemiologi usano il termine solo in relazione a popolazioni. Noi usiamo il termine **misura dell'effetto** per riferirci a quelle variabili epidemiologiche che descrivono cambiamenti nell'esperienza della popolazione (vedi anche Capitolo 3).

**Effetti locali** si hanno nella sede di contatto con il fattore di rischio ambientale. L'inalazione di gas cloro, ad esempio, causa un danno grave ai tessuti del tratto respiratorio, che è la prima sede di contatto corporeo in seguito all'inalazione. L'irritazione degli occhi dopo esposizione ad alti livelli di ozono ambientale è un altro esempio di effetto locale. Effetti possono anche manifestarsi in sedi diverse dal punto di entrata. Una sostanza chimica, ad esempio, è trasportata (di solito attraverso il sangue) in un altro tessuto dopo l'assorbimento. In questo tessuto si può poi avere un **effetto sistemico**.

Effetti sulla salute possono anche essere classificati in base alla velocità con cui essi si sviluppano nell'individuo, in relazione all'inizio e alla fine del periodo durante il quale avviene l'esposizione: un **effetto acuto** è un effetto che si sviluppa molto rapidamente dopo l'inizio dell'esposizione, mentre un **effetto cronico** richiede un notevole tempo per svilupparsi. Questi effetti possono essere **temporanei** (o **reversibili**), il che significa che essi scompaiono dopo la fine dell'esposizione, o **permanenti** (o **irreversibili**), il che significa che essi persistono dopo che l'esposizione è finita (il Capitolo 2 discute più ampiamente sugli effetti sulla salute e il Capitolo 5 descrive la strategia di misura degli effetti sulla salute negli studi epidemiologici).

Questi principi fondamentali forniscono la base per interpretare i legami fra le condizioni ambientali di una comunità e la comparsa di specifici problemi di salute. Le condizioni ambientali di interesse possono essere fattori chimici, fattori fisici (come radiazioni ionizzanti o rumore), fattori biologici presenti in "veicoli" inerti (come batteri e virus nell'acqua potabile e negli alimenti), fattori biologici diffusi da "vettori" vivi (come i plasmodi della malaria nelle zanzare) e fattori di sicurezza ergonomica (le condizioni che portano a lesioni fisiche). Molti esempi presentati in questo testo sono basati su esposizioni a sostanze chimiche, per le quali tali principi sono più appropriati. Ciononostante, possiamo applicare gli stessi principi, con qualche adattamento, quando progettiamo studi di epidemiologia ambientale su altri tipi di fattori di rischio.

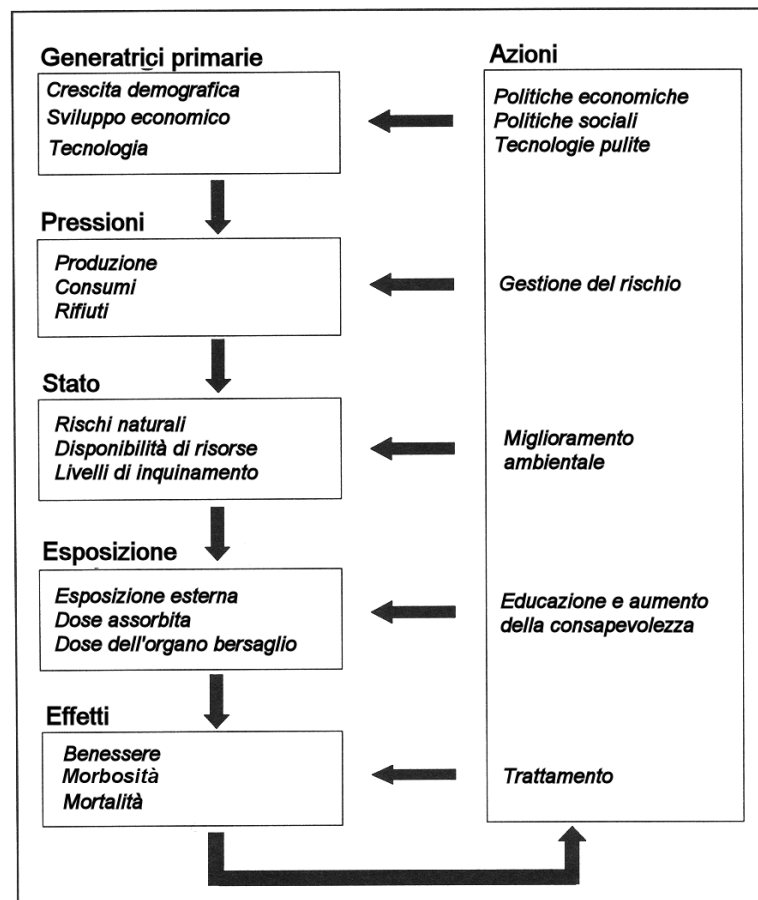
I **fattori biologici** differiscono dagli altri fattori in quanto essi possono moltiplicarsi all'interno del corpo umano e in materiali "nutrienti" (es. generi alimentari). Questo significa che la presenza di appena un batterio o parassita può portare allo sviluppo della malattia. Ad esempio, un'esposizione molto bassa ai batteri del colera può di per se stessa non essere sufficiente a causare la malattia, ma alla fine l'individuo può svilupparla poichè i batteri si moltiplicheranno nell'intestino. Un'altra caratteristica dei fattori biologici è che essi si possono diffondere da un soggetto a un altro e portare a "ca-

si secondari”. Inoltre, per la maggior parte dei fattori biologici l’esposizione porta allo sviluppo di anticorpi nel sangue. Uno studio di epidemiologia ambientale sui rischi biologici può pertanto puntare sulla identificazione degli anticorpi, piuttosto che sull’identificazione dell’agente stesso.

Gli ambiti differenti entro cui avviene l’esposizione e le differenti vie di esposizione costituiscono altri punti focali importanti della gestione igienico-ambientale. La maggior parte delle persone non passa tutto il suo tempo nello stesso luogo ogni giorno, ma ne passa un po’ all’aperto, o all’interno, o al lavoro, o a casa, e così via. L’esposizione che avviene in ciascun ambiente può contribuire significativamente alla **esposizione umana totale**. Gli studi di epidemiologia ambientale dovrebbero tener conto di questo. Ad esempio, l’esposizione all’inquinamento atmosferico indoor in molte città della Cina è anche più elevata dell’esposizione all’inquinamento atmosferico esterno (Chen *et al.*, 1990). L’esposizione totale all’inquinamento atmosferico è quella che determina gli effetti sulla salute, così che bisogna misurare sia l’inquinamento interno agli edifici che quello esterno. Il luogo di lavoro è particolarmente interessante, dato che alcuni fattori di rischio vi si manifestano a livelli molto più elevati che nell’ambiente generale.

La misura diretta dell’esposizione non è sempre possibile e i fattori che portano all’esposizione possono essere usati come “**surrogati**” di esposizione. Nel contesto della gestione igienico-ambientale, questi fattori sono stati descritti come “Cause primarie” che generano “pressioni sull’ambiente”, che portano a cambiamenti dello “stato” dell’ambiente, che aumentano le esposizioni esistenti o ne introducono di nuove, producendo un effetto sulla salute. Al fine di aggiustare il problema, devono essere intraprese azioni (cioè gestione igienico- ambientale) a ogni livello (vedi Figura 1.4).

**Figura 1.4 Sviluppo di indicatori ambientali e di salute**



Fonte: Briggs *et al.*, 1996.

La struttura è dunque Driving force - Pressures - State - Exposure - Effects - Action (DPSEEA - Cause primarie - Pressione - Stato - Esposizione - Effetti - Azione) (Kjellstrom & Corvalàn, 1995).

Una sfida per l'igiene ambientale è quella di identificare il nesso causale fra queste forze o pressioni e le esposizioni reali, perché questa comprensione guiderà le strategie di gestione del problema di igiene ambientale. Un'altra sfida per gli epidemiologi è quella di decidere quando alcuni "surrogati" di esposizione, come la località di residenza di una persona, siano un indicatore sufficientemente preciso di esposizione ambientale, così che il "surrogato" possa essere usato come una misura dell'esposizione in uno studio epidemiologico. L'uso di misure surrogate e altri problemi di misura dell'esposizione sono discussi nel Capitolo 4.

L'associazione fra esposizioni ambientali ed effetti sulla salute può essere complessa, dato che singoli fattori ambientali possono causare **effetti multipli**. Ad esempio, il piombo causa alterazioni biochimiche al sistema dell'eme portando alla fine ad anemia, mentre nello stesso tempo colpisce il sistema nervoso centrale e periferico. Tali effetti combinati sulla salute possono anche essere dovuti a **esposizioni combinate** a vari fattori di rischio. Infatti, in molti casi di inquinamento dell'aria o dell'acqua, avvengono esposizioni combinate.

Situazioni molto complesse possono presentarsi se l'esposizione si riferisce a una miscela di molte sostanze chimiche, come nel caso di alcuni siti di rifiuti pericolosi. Lo studio degli effetti sulla salute correlabili a queste esposizioni miste può dimostrarsi estremamente difficile. Si possono verificare pure esposizioni combinate con fattori di rischio biologici, particolarmente in quartieri poveri con fognature e condizioni igieniche scadenti.

I principi base dell'igiene ambientale saranno citati nel contesto dei differenti aspetti dell'epidemiologia ambientale descritti negli altri capitoli del libro. Comunque, lo studente di epidemiologia ambientale necessiterà di conoscenze più dettagliate riguardo l'igiene ambientale per fare un uso ottimale di questo libro. Un recente libro di testo prodotto dall'OMS, dal titolo *Basic Environmental Health* fornisce le conoscenze ulteriori richieste (Yassi *et al.*, 1998).

## **1.4 Epidemiologia ambientale e scienze correlate**

### **Distinzione fra epidemiologia ambientale ed epidemiologia occupazionale**

Se l'ambiente è definito in senso generale, il luogo di lavoro diviene uno degli ambienti nei quali possono essere presenti fattori di rischio ambientale. In molte situazioni la linea di separazione fra luogo di lavoro e ambiente in generale non è chiara. Molte persone nei paesi in via di sviluppo sono di estrazione contadina e passano una notevole quantità di tempo lavorando nei campi attorno alle loro dimore. Questo ambiente è il loro luogo di lavoro o la loro residenza? Molte donne lavorano in casa svolgendo compiti casalinghi e prendendosi cura dei bambini. La loro casa è dunque anche il loro ambiente di lavoro. Questo testo presenta metodologie che possono essere applicate in ogni ambito, ma gli esempi riguardano applicazioni nell'ambiente generale.

La distinzione fra "epidemiologia ambientale" ed "epidemiologia occupazionale" non è sempre evidente, e alcune persone per questo motivo considerano che l'epidemiologia occupazionale sia una componente dell'epidemiologia ambientale. Eppure, l'igiene del lavoro ha una sua propria base legale ed esiste una considerevole legislazione riguardante la tutela degli addetti dalle esposizioni dannose. C'è inoltre una lunga tradizione di formazione specialistica e di pratica professionale (ad esempio, igiene industriale, medicina del lavoro).

L'applicazione dell'epidemiologia nei luoghi di lavoro differisce dall'applicazione dell'epidemiologia nell'ambiente generale, dato che la prima si riferisce a persone attivamente coinvolte nel "lavoro". Ci si può aspettare, ad esempio, che né bambini né anziani subiscano esposizioni lavorative (anche se il lavoro giovanile è ancora comune in alcune società). Inoltre, una persona sofferente per malattia o handicap è spesso esclusa dal lavoro, quindi, la forza lavoro attiva è generalmente più sana

della popolazione generale. Gli studi di epidemiologia occupazionale devono pertanto tener conto del cosiddetto “effetto del lavoratore sano” (McMichael, 1976).

L’ “effetto del lavoratore sano” dipende anche dalla qualità relativa dell’ambiente domestico e lavorativo. Negli stadi iniziali dell’industrializzazione (e particolarmente nel “lavoro a domicilio”) le condizioni igieniche generali dei luoghi di lavoro erano di solito fatte oggetto di una attenzione molto scarsa da parte dei proprietari dei luoghi di lavoro. Affollamento, calore, scarsa ventilazione, edifici pericolosi e scarso accesso ad acqua potabile erano problemi ambientali comuni. Col miglioramento degli standard del luogo di lavoro, questi problemi possono essere quasi totalmente eliminati e, in alcune situazioni, le condizioni ambientali sul lavoro possono essere migliori di quelle presenti nella case dei lavoratori.

L’ambiente del posto di lavoro è spesso confinato entro edifici. Come risultato, i livelli di esposizione possono essere più elevati che nell’ambiente esterno. Le esposizioni sul luogo di lavoro, siano esse interne che esterne, possono essere elevate anche quando la fonte del rischio è vicina al lavoratore (come nel caso di contadini che spruzzano pesticidi). Per molti fattori di rischio presenti nell’aria, le prime indicazioni di effetti sulla salute nelle popolazioni esposte sono derivate da studi di epidemiologia occupazionale; dato che i materiali pericolosi usati in agricoltura o nell’industria sono maneggiati direttamente dai lavoratori, essi spesso costituiscono la prima popolazione che si trova ad essere esposta. Possiamo perciò considerare il luogo di lavoro come un indicatore (o “sentinella”) di ciò che può accadere nell’ambiente generale. La tabella 1.1 indica le tappe dello sviluppo delle nostre conoscenze sull’avvelenamento da cadmio, dimostrando come siano state acquisite prima per i luoghi di lavoro e successivamente per l’ambiente generale.

**Tabella 1.1 Sviluppo delle conoscenze sull’avvelenamento da Cadmio**

Periodo di tempo	Sviluppo delle conoscenze
Anni ‘30	<b>Primi studi su animali che mostrano effetti sul polmone</b>
Anni ‘40	Primi studi su <b>lavoratori</b> che mostrano effetti su ossa, polmoni e reni (in Francia e Svezia)
Anni ‘50	Primi studi sulla <b>popolazione generale</b> (contadini) in Giappone con effetti su reni e ossa (malattia di Itai-Itai) per esposizione ad acqua e riso contaminati
Anni ‘60	Studi epidemiologici dettagliati sulla <b>popolazione generale</b> a Toyama, Giappone, per la malattia Itai-Itai. Il governo giapponese riconosce il legame con l’esposizione a cadmio. Si comprende il meccanismo del danno renale nei lavoratori.
Anni ‘70	Prima rassegna completa pubblicata (“Cadmio nell’ambiente” di Friberg <i>et al.</i> ). Studi epidemiologici in alcune aree inquinate del Giappone sulla <b>popolazione generale</b> . Primi studi sui <b>lavoratori</b> che collegano il cadmio con il cancro del polmone. Linee guida dell’OMS sul cadmio negli alimenti.
Anni ‘80	Linee guida OMS sul cadmio nell’ambiente di lavoro. Studi epidemiologici nelle aree inquinate della Cina sulla <b>popolazione generale</b> . Viene identificato mediante <b>studi su animali</b> il meccanismo che è alla base degli effetti renali e degli effetti ossei prodotti dal cadmio.
Anni ‘90	Pubblicazione WHO <i>Environmental Health Criteria</i> sul cadmio. L’Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro dichiara il cadmio un cancerogeno umano.

Fonte: adattato da Friberg *et al.*, 1986, e Kjellstrom, 1986.

Da un punto di vista epidemiologico, i lavoratori in un particolare posto di lavoro formano un gruppo ben definito e facilmente accessibile. Gli studi di epidemiologia occupazionale pertanto sono stati spesso i primi ad essere intrapresi sugli effetti sulla salute di una particolare sostanza pericolosa. Alcune indagini sulla salute nel luogo di lavoro sono infatti richieste per legge. Ad esempio, la maggior parte dei paesi ha promosso una legislazione riguardante controlli periodici dei lavoratori del piombo per l’esposizione al metallo e gli effetti sulla salute. Il controllo della salute dei lavoratori è comune anche in altre industrie pericolose come l’elettrogalvanica, le miniere e le cave. I dati di questi pro-

grammi di screening e relativi monitoraggi dell'esposizione possono essere usati per studi di epidemiologia occupazionale.

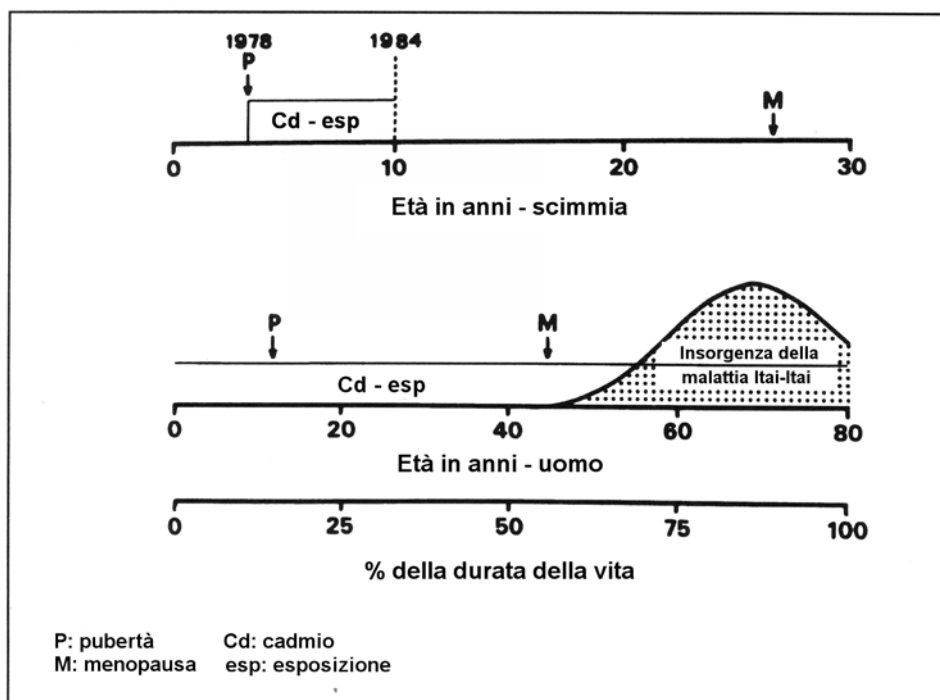
I metodi usati nell'epidemiologia occupazionale sono stati descritti in una pubblicazione dell'OMS (WHO, 1986) ed in numerosi altri testi.

### Relazione fra epidemiologia ambientale e studi sperimentali su animali

Come descritto precedentemente, **esposizione** ed **effetto sulla salute** sono due dei concetti fondamentali usati in epidemiologia ambientale. Essi costituiscono anche la base degli studi sperimentali, nei quali un animale da test è esposto a un fattore ambientale finché manifesta un effetto. La prova sperimentale è spesso usata per valutare il potenziale rischio per la salute dell'uomo derivante da tali esposizioni. La **valutazione del rischio** (risk assessment) pertanto implica la combinazione di informazioni tossicologiche ed epidemiologiche per fare una valutazione più accurata possibile del rischio per la salute umana.

Gli studi sugli animali possono indicare l'organo bersaglio nel quale si manifesteranno gli effetti sulla salute umana e possono fornire un'utile informazione qualitativa per quel che riguarda le differenti tappe del metabolismo di una sostanza. Se l'animale ha una struttura di organo simile a quella umana, si può supporre che l'organo equivalente umano sarà colpito per la stessa via. Comunque, il metabolismo, la dimensione e la durata della vita degli animali da test differiscono da quelli dell'uomo. Un effetto osservato nell'uomo dopo 30 anni di esposizione (un terzo della durata della vita) nell'animale può richiedere una proporzionale durata di esposizione (in termini di frazione della vita) per dimostrare degli effetti. Nel caso di piccoli animali, come i topi e i ratti, questo periodo può essere di un anno, o meno, rendendo perciò lo studio fattibile. Invece, in animali più grandi o più longevi, come le scimmie, questo potrebbe significare decenni di esposizione degli animali. Condizioni di esposizione che rispettino fedelmente quelle umane possono essere molto difficili da eseguire: è il caso dello studio degli effetti del danno osseo da esposizione a cadmio (Kjellstrom, 1986). (vedi Figura 1.5).

Figura 1.5 Confronto della durata della vita dell'uomo e della scimmia Rhesus



Fonte: Kjellström, 1986

Nella valutazione del rischio esistono, quindi, importanti limitazioni riguardo all'acquisizione di conclusioni quantitative basate solamente su dati sperimentali animali. Inoltre, gli studi sperimentali spesso presuppongono che gli animali esposti siano geneticamente identici: infatti, in questo caso, è indicato l'uso di piccoli gruppi di animali in studio. Se non lo sono, invece, il risultato finale potrebbe semplicemente essere che gli studi non sono stati progettati in modo tale da tener conto sufficientemente della variazione nella suscettibilità individuale degli uomini, dovuta a fattori genetici. Inoltre, nelle popolazioni umane, l'esposizione può variare considerevolmente fra gli individui. Gli studi epidemiologici esplorano sia la variazione dell'esposizione che le variazioni degli effetti, e pertanto rappresentano la vita reale più accuratamente degli esperimenti animali. Se le descrizioni dei meccanismi degli effetti sulla salute sono basate sui risultati di studi sia su animali che epidemiologici, esse saranno più utili al processo decisionale di quelle basate solamente su studi animali.

Studi sperimentali su animali sono limitati anche perché riguardano gli effetti specifici dell'esposizione a una singola sostanza. Ma di fatto, le esposizioni raramente avvengono in modo isolato. Dovrebbero quindi essere presi in considerazione gli effetti di esposizioni combinate. Dato che gli studi epidemiologici si occupano di situazioni di esposizione nella vita reale, essi prendono in considerazione la complessità delle esposizioni combinate. Essi possono anche stimare il rischio attribuibile e il numero effettivo di persone esposte al fattore di rischio (o a una combinazione di fattori) in un ambiente specifico.

### ***1.5 Applicazione dei principi di epidemiologia ambientale nel vostro lavoro***

E' importante fissare le priorità su come e quando impegnare risorse per pianificare e implementare studi di epidemiologia ambientale. La precedenza dovrebbe essere data alla risoluzione dei problemi di salute della comunità in relazione all'ambiente. Gli studi potrebbero occuparsi di una situazione locale, che necessita di acquisire più informazioni per avviare un'efficace azione preventiva, o per ottenere informazioni su come un particolare agente causa malattia. Qualsiasi sia la situazione, comunque, i metodi o le indicazioni guida fornite in questo testo aiuteranno il ricercatore a raccogliere informazioni in maniera scientificamente valida. Le nuove informazioni possono poi essere interpretate ed usate per prendere decisioni sulle azioni da intraprendere per ridurre o eliminare il rischio di malattia.

In alcune situazioni, un semplice studio descrittivo della situazione locale può fornire abbastanza informazioni per decidere le necessarie azioni preventive. In altre può essere richiesto uno studio più dettagliato e complesso, così che coloro che devono prendere decisioni siano completamente informati e perseguano le più appropriate politiche di salute e ambiente. Gli epidemiologi ambientali devono pertanto sapere come fare a scegliere il disegno dello studio che meglio si adatta alla situazione. Qualunque sia l'approccio di studio intrapreso, deve essere preparata una relazione che sottolinei i metodi, i risultati e l'interpretazione dei risultati. Lo studio non può essere considerato completato finché la comunità stessa non è stata informata dei risultati. Inoltre, pubblicando i risultati in un giornale scientifico si fornisce un resoconto permanente dei dati, dai quali altri ricercatori possono imparare.

Vostro scopo nello studiare l'epidemiologia ambientale può essere quello di imparare a produrre nuovi dati o nuove analisi per futuri studi di epidemiologia ambientale, o di imparare a usare i dati derivati da tali studi per prendere decisioni nella gestione dell'igiene ambientale. In alternativa, potreste voler imparare di più su questa scienza, così da essere in grado di insegnarla a studenti o al personale più giovane della vostra istituzione. Possiamo pertanto identificare tre principali applicazioni dell'epidemiologia ambientale: **ricerca, pratica e insegnamento**. Una comprensione approfondita dei principi che sono alla base degli studi di epidemiologia ambientale è cruciale per ciascuna di queste applicazioni.

Questo testo è progettato per accompagnare un corso che insegni agli studenti come eseguire uno studio di epidemiologia ambientale e come interpretare gli studi. In tale corso possono anche essere

usati numerosi, ulteriori materiali per l'apprendimento. Nel testo sono inclusi riferimenti ad altri materiali pertinenti, in particolare a quelli prodotti dall'OMS, dato che essi sono disponibili nelle biblioteche in tutto il mondo (l'OMS fornisce molte sue pubblicazioni gratuitamente a molte biblioteche nei paesi in via di sviluppo). Un elenco di ulteriori risorse informative e materiale didattico è incluso nel Capitolo 12.

Per comprendere appieno questo testo è necessario che il lettore abbia qualche conoscenza di base. Prima di tutto, è richiesta la conoscenza dei principi di base dell'epidemiologia, anche se alcuni degli elementi chiave di questa scienza sono descritti nel Capitolo 3. Noi auspichiamo che il lettore abbia già familiarità con i concetti descritti in *Basic Epidemiology* (Beaglehable *et al.*, 1993). Questa conoscenza preliminare dovrebbe essere equivalente a un corso di 20-30 ore di epidemiologia. E' anche necessario che si conoscano i metodi statistici di base per sviluppare e implementare i tipi di studi descritti in questo testo. Sarà importante anche che il lettore abbia un'ampia comprensione dei principi e concetti scientifici relativi all'igiene ambientale che si possono trovare nel recente documento WHO, *Basic Environmental Health* (Yassi *et al.*, 1998). Anche questo materiale copre l'equivalente di 20-30 ore di corso.

L'apprendimento delle metodologie per eseguire studi di epidemiologia ambientale è comunque un processo in divenire, che dovrebbe comprendere un'esperienza di progettazione e implementazione degli studi, di raccolta e interpretazione dei dati di epidemiologia ambientale. Questo libro dovrebbe pertanto essere visto come uno strumento per iniziare a sviluppare conoscenze più approfondite. L'interazione con altri ricercatori e con personale della Sanità pubblica è un altro importante elemento di tale processo di apprendimento. Questo testo fornisce una base comune, in termini di concetti e terminologia, in grado di facilitare la comunicazione tra ricercatori sui dati di epidemiologia ambientale.

## 2 IL CONTESTO DELL'EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE

### **Obbiettivi didattici**

- Comprendere come problemi di igiene ambientale possano emergere in una comunità e richiedere una indagine epidemiologica.
- Essere in grado di descrivere i concetti di esposizione, dose, effetto e risposta e le loro interconnessioni, e fornire esempi riguardanti matrici ambientali differenti.
- Comprendere la distinzione fra marcatori biologici di esposizione e marcatori biologici di effetto.
- Rendersi conto dei problemi sociali, economici, etici, legali e scientifici implicati nella conduzione di un'indagine epidemiologica ambientale.
- Conoscere bene il processo che consente di decidere se uno studio debba essere intrapreso.

### **2.1 Il contesto degli studi di epidemiologia ambientale**

Come descritto nel Capitolo 1, l'epidemiologia ambientale si occupa di tutti i tipi di rischi ambientali, ciascuno dei quali richiede distinti approcci alla misurazione delle esposizioni e degli effetti. Quando il manifestarsi di un effetto è di natura improvvisa (una "epidemia") ed è causato da fattori di rischio noti, i metodi epidemiologici possono essere piuttosto semplici, e le informazioni per indirizzare la prevenzione possono essere ottenute rapidamente. In molti casi gli studi di epidemiologia ambientale richiedono tecniche più sofisticate e sono più difficoltosi da eseguire, per le ragioni seguenti.

In primo luogo, l'esposizione a contaminanti ambientali può avvenire a livello individuale, ma più spesso avviene a livello familiare, comunitario, o anche regionale, così che può essere difficile misurare in modo preciso l'esposizione di un individuo. Grande attenzione pertanto deve essere data alla valutazione accurata dell'esposizione e alla possibilità di vie multiple di esposizione e di esposizioni combinate a differenti fattori di rischio che causano effetti simili.

In secondo luogo, l'eccesso di rischio associato con l'esposizione nella popolazione generale può essere assai piccolo. Tuttavia, anche rischi moderatamente elevati possono rappresentare un impatto significativo sulla popolazione se sono esposti grandi gruppi. Per esempio, una recente ricerca ha indicato che piccoli aumenti ( $10 \mu/m^3$ ) nella concentrazione del particolato respirabile nell'aria possono essere associati con un aumento di mortalità del 1-2 % (Dockey & Pope, 1994), che può rappresentare un gran numero di morti supplementari, se sono esposte intere popolazioni urbane. Individuare questo piccolo, ma significativo aumento di rischi può essere tuttavia difficile, a causa della possibilità di errore random e di errore sistematico. La valutazione qualitativa e quantitativa dell'influenza dell'errore sistematico è pertanto cruciale. Infatti, c'è grande necessità di migliorare la capacità degli studi epidemiologici di scoprire piccoli effetti, per esempio, aumentando la validità e precisione della stima dell'esposizione e la sensibilità e specificità delle misure di risultato.

Una terza caratteristica dell'epidemiologia ambientale è l'interesse per le sue scoperte mostrato spesso dalle agenzie pubbliche responsabili del controllo e della regolamentazione in materia. La documentazione di un effetto avverso sulla salute dovuto a un fattore ambientale, quale i rifiuti industriali o l'inquinamento dell'aria, può avere significative conseguenze per la linea di condotta pubblica o gli impegni finanziari. Per fare in modo che coloro che prendono le decisioni comprendano i risultati dello studio di epidemiologia ambientale, le relazioni che descrivono questi risultati devono essere chiare e scritte in linguaggio comprensibile. Questa è la base per una buona comunicazione del rischio. Anche la capacità di interagire efficacemente con tutte le parti interessate è un elemento essenziale di molti studi di epidemiologia ambientale.

### **Motivazione degli studi**

Studi di epidemiologia su problemi di igiene ambientale possono venire intrapresi per varie ragioni.



Spesso mirano a fissare o migliorare le conoscenze scientifiche della relazione causale fra esposizione ambientale e malattia. Tali studi sono spesso intrapresi da una università o istituto di ricerca. Se sono portati a termine con successo, aumentano la consapevolezza dell'impatto sulla salute dei fattori di rischio ambientali e la necessità di prevenirli o minimizzarli. Uno studio epidemiologico può anche essere finalizzato all'ottenimento di dati descrittivi che consentano di prendere una decisione iniziale riguardante azioni preventive. Tali indagini possono essere condotte da agenzie di sanità pubblica locali o regionali in risposta a preoccupazioni della comunità per un'esposizione ambientale percepita o per un'epidemia. Queste indagini devono avere un orientamento pratico, di risoluzione del problema, per rispondere alle preoccupazioni della comunità nel più breve tempo possibile. Successivamente si potrà pensare ad un'indagine epidemiologica più dettagliata, per identificare le cause precise del cattivo stato di salute e per monitorare gli interventi.

In alternativa, lo stimolo per uno studio può derivare da quesiti ancora irrisolti riguardo l'impatto sulla salute di un fattore di rischio scoperto da precedenti ricerche, o conseguenti al riscontro sul campo di malattie ambientali. La necessità di ricerca epidemiologica può anche derivare dalla consapevolezza della comunità riguardo ai problemi ambientali, aumentata in modo significativo negli ultimi anni, così da produrre, sia da parte delle autorità pubbliche sia delle comunità, la domanda di un tipo di ricerca i cui risultati siano validi e dimostrabili. In particolari casi, necessitano ulteriori studi, più dettagliati di quelli originali, che hanno indicato o messo in luce un problema di igiene ambientale. In generale, la natura di uno studio epidemiologico ambientale è determinata dai responsabili della conduzione dello studio, dallo scopo dello studio e dalle risorse disponibili per i ricercatori.

Molte malattie possono associarsi a cambiamenti ambientali (vedi Tabella 2.1). Pertanto, un eccesso di manifestazione di queste malattie fornirebbe in generale la motivazione per la conduzione di uno studio di epidemiologia ambientale. La causalità può essere multifattoriale, con un'influenza di fattori ambientali, comportamentali ("stile di vita") e socio-economici.

Anche l'esposizione di una popolazione a un particolare fattore di interesse nazionale o internazionale può stimolare ulteriori studi epidemiologici ambientali. A Città del Messico, per esempio, le concentrazioni di ozono possono essere molto alte ed hanno suscitato grande interesse a livello nazionale, rendendo questa città il luogo adatto per condurre ricerche sugli effetti sulla salute di questo fattore (Castillejos *et al.*, 1992).

**Tabella 2.1 Malattie che sono state correlate ad agenti ambientali**

Gruppo di malattie	Sottogruppo	Fattore ambientale
Gastrointestinale	Malattia diarroica	Batteri e virus nell'acqua e nel cibo
Cancro	Polmone	Fumo di tabacco, metalli, radiazioni
	Cellule ematiche	Idrocarburi, radiazioni
	Tessuti molli	Idrocarburi, erbicidi
	Fegato	Idrocarburi
	Tratto urinario	Certi composti chimici
Respiratorio	Asma	Clima, particolato, ozono
	Bronchite	Particolato, solfati
	Enfisema	Fumo, solfati, ozono
Riproduttivo	Malformazioni	Miscele chimiche, solventi
	Aborti	Metalli, idrocarburi
	Basso peso alla nascita	Fumo di tabacco, miscele chimiche
Neurologico	Sviluppo	Piombo
	Trasmissione	Piombo, solventi organici

Spesso, gli studi epidemiologici sono condotti anche in risposta a preoccupazioni della comunità riguardo al recente sviluppo o all'aumentata incidenza di effetti sulla salute che si ritengono collegati a cambiamenti nelle condizioni ambientali avvenuti in seguito allo sviluppo industriale e agricolo. I casi di malattia possono manifestarsi come un'"epidemia". Per esempio, un gruppo di malformazioni congenite può essere identificato in un ospedale della comunità in un breve periodo di tempo (Walss-Rodriguez *et al.*, 1990). Se invece l'eccesso di rischio è piccolo, i casi possono accumularsi gradualmente in un lungo arco di tempo, rappresentando, tuttavia, un considerevole carico sociale ed economico per la comunità: l'enfisema nelle città industriali è uno di tali esempi. Analogamente, cluster (aggregazioni) di malattie gravi (es. cancro) mai osservati precedentemente in una città, spesso danno l'avvio ad indagini su fattori ambientali. Negli USA, in particolare, le discariche di rifiuti pericolosi stanno attualmente causando molta inquietudine, particolarmente fra le comunità locali. Molte di queste discariche sono fonti potenziali di esposizione ad agenti mutageni e carcinogeni, ad agenti neurotossici e a sostanze irritanti per la respirazione e per gli occhi. Alcune di queste discariche sono state sottoposte a sorveglianza epidemiologica. Nello Stato di New York, per esempio, uno studio ha rivelato un rischio aumentato dal 6 % al 15 % di malformazioni congenite in bambini nati da madri che vivevano vicino a tali fonti di esposizione (Geschwind *et al.*, 1992).

Nel caso di un disastro ambientale, la necessità di indagini di epidemiologia ambientale può essere urgente (Kreimer & Munasigne, 1991). Analogamente, un'esposizione collettiva conseguente a un disastro ecologico può richiedere un'indagine epidemiologica, come avvenne in Ungheria quando si sospettò che un'aggregazione insolita di anomalie congenite potesse essere correlata a contaminazione da trichlorfon dovuta a pesce (Creisel *et al.*, 1993). Anche un disastro percepito può richiedere una ricerca epidemiologica, come nel caso degli effetti sulla salute osservati in seguito a rilascio di sostanze chimiche da una fabbrica di pesticidi ed erbicidi a Veracruz, Messico (Restrepo, 1993).

Talvolta si intraprendono degli studi in risposta alla preoccupazione pubblica, anche se questa è espressa da gruppi relativamente piccoli, rappresentati ad esempio da coloro che sostengono di essere stati avvelenati dal mercurio delle otturazioni dentali o danneggiati da campi elettromagnetici (EMF). L'azione preventiva risultante, tuttavia, può proteggere la salute di un gran numero di persone. In Svezia, ogni anno si registrano circa 70 nuovi casi di leucemia infantile, ed è stato stimato che ogni anno possa verificarsi circa 1 caso extra di leucemia come risultato dell'esposizione a EMF (Feychting & Ahlbom, 1995; Feychting *et al.*, 1995). La natura causale dell'associazione non è ancora chiara, ma la stima fornisce un'idea della dimensione relativa di questo problema di salute pubblica, rispetto ad altre cause di morte fra i bambini in Svezia. Ciò nonostante, si stanno conducendo studi epidemiologici sulle radiazioni elettromagnetiche, in risposta alla preoccupazione pubblica su questo tipo di esposizione. L'informazione ottenuta da questi studi dovrebbe essere generalizzabile ad altre popolazioni.

Gli studi di epidemiologia ambientale possono anche contribuire alla gestione pratica dell'igiene ambientale, che richiede un monitoraggio continuo delle esposizioni ambientali e degli effetti sulla salute. Tale monitoraggio è un mezzo per raccogliere dati quantitativi che possono essere analizzati epidemiologicamente e diffusi in modo da poter essere facilmente interpretati da coloro che prendono decisioni e dalle comunità. Come rilevato nel Capitolo 1, spesso i legislatori richiedono anche specifiche ricerche epidemiologiche ambientali sotto forma di raccolta di dati sulla salute umana, per sostenere le loro decisioni in materia di politica e gestione ambientale. Idealmente, uno studio epidemiologico dovrebbe essere progettato e implementato in modo da soddisfare sia le necessità gestionali pratiche che quelle scientifiche. Bisogna tuttavia riconoscere che può essere difficile combinare i criteri rigorosi di uno studio scientifico con la flessibilità e l'apertura richieste per uno studio gestionale che coinvolga una comunità.

### **Interazione multisettoriale**

L'epidemiologia ambientale dipende dalla collaborazione di professionisti di molteplici discipline e dalla interazione fra numerosi settori della società. Sebbene all'inizio si occupasse principalmente di

problemi igienistici, il campo di interesse dell'epidemiologia ambientale si è allargato considerevolmente, così che gli epidemiologi ambientali devono ora lavorare con professionisti di vari settori, quali quello delle abitazioni, dell'agricoltura e delle forniture alimentari, dei trasporti e dell'industria. La valutazione del potenziale impatto sulla salute umana di un fattore come lo sviluppo industriale può essere molto complessa e può comportare un bilancio dei potenziali effetti avversi dell'esposizione ai contaminanti industriali rispetto agli effetti positivi sulla salute associati con lo sviluppo economico. Può anche essere necessario prendere difficili decisioni riguardo la destinazione di risorse limitate, in tema di salute umana e altre necessità: per esempio, potrebbe sorgere la necessità di scegliere fra attuare una politica ambientale e sanitaria restrittiva mirata ai contaminanti tossici o destinare risorse alle abitazioni o all'educazione.

Dato il suo ampio campo d'interesse, l'epidemiologia ambientale può contribuire a molte discipline, allo sviluppo di iniziative come Città Sane (vedi Box 2.1) e a concetti multidisciplinari come quello di "Metabolismo Urbano", dove le funzioni di una città sono viste nei termini delle interazioni sociali, fisiche, economiche, demografiche ed epidemiologiche (Hancock, 1993; Ness, 1994). Infine, l'epidemiologia ambientale allargherà la sua influenza ancora oltre, aumentando la comprensione delle interazioni fra i molteplici fattori che influenzano la salute e il benessere, e la capacità di proporre interventi per alleviare condizioni di vita difficili, come quelle che si verificano in molte delle grandi città del mondo.

#### **Box 2.1 Il movimento Città Sane**

Il progetto Città Sane promuove la collaborazione fra agenzie chiave (governo, imprese, organizzazioni comunitarie, gruppi professionali e organizzazioni non governative), in modo che esse possano raggiungere un accordo su come poter migliorare, congiuntamente, la qualità dell'ambiente di vita della loro città. Il movimento è partito come un progetto europeo finalizzato alla creazione di un approccio concreto alla questione della salute della città. Negli ultimi anni tutti gli uffici regionali dell'OMS hanno sviluppato progetti Città Sane in collaborazione con città e Comuni di molti paesi.

Gli obiettivi primari del progetto sono quelli di consolidare la capacità delle amministrazioni municipali di occuparsi dei problemi di salute e ambiente, e di dare agli individui, alle famiglie e a gruppi della comunità l'opportunità di prendere parte alla risoluzione di tali problemi. I progetti Città Sane forniscono una struttura che mette assieme vari elementi: una maggiore consapevolezza dei problemi della salute e dell'ambiente relativi allo sviluppo urbano, una rete di città per promuovere scambi di informazione e trasferimento di tecnologia, un collegamento fra programmi tecnici su salute e ambiente e la mobilitazione politica e partecipazione delle comunità. Studi e indagini di epidemiologia ambientale contribuiscono a questi progetti, fornendo informazioni per coloro che devono prendere decisioni.

*Fonte: WHO, 1992d.*

#### **Aspetti sociali, economici, legali e politici**

In alcuni paesi, i rischi ambientali per la salute stanno ricevendo un'attenzione crescente da parte dei mass media, con il risultato che spesso si lanciano allarmi riguardanti nuove minacce provenienti da fattori ambientali. Molto spesso, tuttavia, la preoccupazione è basata non su prove derivanti da studi epidemiologici, ma su prove di tossicologia animale o sulla descrizione di una casistica basata solamente su pochi individui presumibilmente colpiti. Normalmente, i media non prendono in considerazione le implicazioni di sanità pubblica quando diffondono notizie su questi rischi per la salute. Tali implicazioni devono essere analizzate al fine di stabilire le priorità per la prevenzione. Un processo decisionale razionale in materia di prevenzione sarebbe avvantaggiato se si basasse di più sull'epidemiologia ambientale. Tuttavia, vari fattori complicano l'utilizzo dell'epidemiologia ambientale come base per la valutazione del rischio sanitario. Tra questi, per esempio, il lungo periodo di latenza di alcuni effetti: gli studi epidemiologici potrebbero non produrre, infatti, risultati informativi se non molti anni dopo l'introduzione di un fattore di rischio nell'ambiente. Inoltre gli studi epi-

demilogici possono essere assai costosi: ciò significa che può non essere realizzabile la valutazione di tutti i numerosi potenziali rischi ambientali per la salute cui una popolazione va incontro.

L'epidemiologia ambientale ha la capacità di fornire informazioni che possono contribuire a prendere decisioni razionali, anche se l'uso che viene fatto di tale capacità varia. Alcune società sono molto preoccupate dei rischi ambientali e agiscono di conseguenza. Esse incoraggiano gli studi di epidemiologia ambientale e ne usano i risultati per stabilire linee guida e regolamenti riguardanti esposizioni potenzialmente pericolose. Altre società non sono in grado di sviluppare capacità epidemiologiche ambientali e di conseguenza rimangono "ignoranti" dei pericoli ambientali o non agiscono per prevenirli o controllarli. L'epidemiologia ambientale, che occupa un ruolo centrale nella discussione sulla transizione epidemiologica (Bobadilla *et al.*, 1993), ha contribuito alla costruzione del consenso sulle stime di rischio per le popolazioni. Mediante questo coinvolgimento, possono essere stabiliti dei traguardi per gli standard sulla sicurezza in accordo con i valori locali.

L'epidemiologia ambientale può contribuire ad una distribuzione razionale delle risorse fornendo stime quantitative della riduzione del rischio che potrebbe essere prevista controllando le esposizioni ai fattori di rischio ambientali. Le stime del rischio derivate da studi epidemiologici possono, pertanto, essere usate per analisi costo-efficacia dai gestori dell'ambiente.

I legislatori spesso necessitano di ricerche epidemiologiche ambientali sotto forma di dati sulla salute umana per avvalorare le decisioni politiche. Le relazioni causali sono stabilite in modo più convincente con dati sull'uomo (vedi ad es. IARC 1987), anche se i dati sperimentali sono negativi, come nel caso della carcinogenesi da arsenico (IARC 1980; Rossman, 1998). Proiezioni basate su esperimenti animali o estrapolazioni da studi di epidemiologia occupazionale, in cui sono implicati livelli più elevati di esposizione di quanto avviene con la popolazione generale, sono meno affidabili delle osservazioni epidemiologiche dirette sulla popolazione generale.

Gli studi epidemiologici, talvolta, sono usati anche per migliorare la base quantitativa necessaria per la valutazione del rischio e per stabilire degli standard. In tal caso l'attenzione si focalizza su esposizioni e su effetti già identificati. Tuttavia, i gruppi studiati originariamente possono essere piccoli e lo spettro dei livelli di esposizione limitato. Ripetere uno studio, usando gli stessi metodi dello studio originario, può fornire informazioni aggiuntive molto utili. Lo studio ripetuto può essere eseguito nello stesso ambito di popolazione o in un ambito differente, forse anche in un altro paese. Per esempio, molte informazioni epidemiologiche sui maggiori fattori di rischio ambientale, come il biossido di zolfo, sono basate su studi condotti negli anni 1950 e 1960 nei paesi sviluppati industrialmente. Condurre degli studi in paesi in via di sviluppo, dove i livelli di esposizione a questi inquinanti sono diventati molto alti, permetterebbe di confermare e di allargare questa base di conoscenze quantitative, e potrebbe fornire ulteriori informazioni circa l'estrapolazione del rischio stimato da una popolazione ad un'altra.

Nel Nord America, nell'ambito di procedimenti legali, a volte si richiedono prove derivanti da studi epidemiologici. Per un epidemiologo ambientale, ciò può rendere necessario l'uso di un particolare trattamento dei dati e metodi di documentazione: l'ideale sarebbe tenere conto di queste esigenze già in fase di progettazione degli studi.

### **Percezione e comunicazione del rischio**

Dal momento che l'epidemiologia ambientale opera nel contesto del rischio, gli epidemiologi devono imparare come valutarlo e come comunicarlo (Baker, 1990). E' essenziale discriminare fra "fattore di rischio" (hazard) e "rischio" (risk). In questo libro sono usate le definizioni stabilite dall'OMS (1989). Un fattore di rischio deve essere inteso come una fonte di pericolo; un termine qualitativo che esprime la possibilità che un agente ambientale possa danneggiare la salute. Il rischio è una probabilità quantitativa che un effetto sulla salute si manifesti dopo che un individuo è stato esposto ad una precisa "quantità" di un fattore di rischio. La valutazione del rischio è la stima qualitativa o quantitativa della probabilità di effetti avversi che possono derivare dall'esposizione a specifici fatto-

ri di rischio per la salute, oppure della assenza di influenze benefiche. Il trasferimento dell'informazione sul rischio da un pubblico esperto a un pubblico non esperto è noto come "comunicazione del rischio".

### **Percezione del rischio**

Un pre-requisito per il successo della comunicazione del rischio è la consapevolezza di quanto la percezione del rischio dipenda da fattori culturali. In altre parole, la percezione del rischio è parte del sistema di valori di una società (Fischhoff, 1993). Per esempio, in società molto povere, la febbre tifoide potrebbe essere percepita come un basso rischio, data l'esistenza di rischi molto più "immediati" per la salute, quali la malnutrizione o una dimora inadeguata; nelle società molto industrializzate, invece, anche un piccolo rischio di contrarre la febbre tifoide sarebbe motivo di grande preoccupazione (la Tabella 2.2 presenta numerosi fattori che possono influenzare la percezione del rischio). La percezione del rischio non è un costrutto scientifico. La contrapposizione e la comparazione dei rischi, e lo stabilire livelli uniformi di rischio accettabile sono pertanto compiti complessi.

**Tabella 2.2 Fattori correlati alla percezione del rischio**

Possibilità di catastrofe	Possibilità di controllo volontario
Eventi non familiari	Volontà di essere esposto
Comprensione dell'evento	Livello di certezza
Latenza	Effetti sulle future generazioni
Equità	Anni persi di vita sana
Fiducia nelle istituzioni	Consapevolezza dei media
Vantaggio percepito di comportamenti a rischio	Storie di altre catastrofi
Vulnerabilità	Origine naturale
Quantificabilità	Percentuale di popolazione esposta

### **Comunicazione del rischio**

La comunicazione del rischio varia in rapporto al suo livello, al tipo, allo scopo, ai metodi e alle persone che se ne occupano. A seconda del numero di persone alle quali una comunicazione è indirizzata, e della specificità del suo contenuto, essa può mirare a informare l'individuo, particolari organizzazioni, o la popolazione in generale. Altri gruppi destinatari includono la famiglia, il gruppo di lavoro o la scuola.

E' un errore considerare una società come omogenea quando si progetta la comunicazione del rischio (Montoya, 1992). Nella maggior parte delle regioni del mondo le società sono eterogenee per quanto riguarda l'istruzione. Programmi di comunicazione del rischio attraverso i media devono indirizzarsi sia agli analfabeti che a popolazioni parzialmente istruite, così come a quelle che sono ben istruite. E' anche importante comprendere il contesto socio-culturale e la posizione del pubblico destinatario sui vari aspetti di un problema. Tecniche quali questionari, "nominal group", "focus group", o indagini generali spesso si dimostrano utili per valutare il bisogno di informazione di un determinato pubblico o gruppo destinatario. Per esempio, a proposito della produzione di ceramiche smaltate e del rischio di contaminazione da piombo a cui questo processo li esponeva, gli artigiani messicani sostenevano che, dato che essa non comportava alcun rischio, un cambiamento nella tecnologia non sarebbe andato a loro vantaggio. Gli artigiani sostenevano che l'intossicazione da piombo era solo una "preoccupazione dei medici". L'implementazione di misure preventive efficaci diventò possibile solo dopo che uno studio epidemiologico ambientale dimostrò quantitativamente agli artigiani e alle loro famiglie le conseguenze sanitarie dell'esposizione al piombo all'interno delle abitazioni (Santos-Burgoa, informazione non pubblicata).

La comunicazione del rischio può avvenire oralmente o tramite carta stampata (es. giornali, opuscoli) mezzi visivi (es. poster, spot televisivi), e anche per via elettronica. Programmi interattivi computerizzati, per esempio, sono stati usati per spiegare i rischi legati all'acqua alla popolazione in generale

(Kubek & Robillard, 1993). Metodi di comunicazione orale includono incontri individuali o di gruppo, come pure interviste con rappresentanti dei media.

Un'efficace comunicazione del rischio richiede messaggi coerenti da varie fonti. Sono importanti i contributi che medici, operatori sociali, leader e comunicatori professionisti possono dare (Sparks e Cooper, 1993). Gli epidemiologi ambientali devono fornire ai comunicatori le più accurate stime del rischio.

## **2.2 Base biologica dell'epidemiologia ambientale**

### **Esposizione e dose**

Del ruolo centrale dell'esposizione si è già parlato nel Capitolo 1. Tuttavia, prima di prendere in considerazione i problemi metodologici della valutazione dell'esposizione, deve essere compresa la relazione dell'**esposizione** con la **dose**. Questi termini sono spesso usati scambievolmente e non correttamente, sia dagli epidemiologi che da altri scienziati dell'igiene ambientale. L'esposizione si riferisce alla concentrazione nell'ambiente di un agente che viene a contatto con la parte esterna del corpo umano, mentre la dose è la quantità dell'agente che entra realmente nel corpo. Il concetto di dose può essere ulteriormente definito come **dose di organo bersaglio**, che è la quantità di un agente che raggiunge, nel corpo, l'organo o il tessuto suscettibili. Il termine "dose di organo bersaglio" è pertanto usato da vari ricercatori per riferirsi alla capacità di assorbimento di un agente da parte di uno specifico organo, tessuto o cellula o la concentrazione di quell'agente nell'organo, tessuto o cellula in questione.

E' solo quando un inquinante raggiunge la parte interna del corpo che l'esposizione può essere espressa come dose. Una persona potrebbe tuffarsi in acqua inquinata ed essere molto esposta agli inquinanti ivi contenuti, ma una dose polmonare si avrebbe solo se la persona aspirasse l'acqua.

In epidemiologia, le stime dell'esposizione sono di solito basate su dati raccolti da strumenti di monitoraggio ambientale o su stime ottenute con metodi diretti o indiretti. Queste tecniche di misura sono descritte nel Capitolo 4. I dati di monitoraggio sono usati per stimare l'esposizione, l'esposizione è usata per stimare la dose, e la dose è usata per stimare la dose biologicamente efficace sull'organo bersaglio. La mancata comprensione della distinzione fra questi termini può avere un effetto negativo nel formulare e interpretare uno studio di epidemiologia ambientale.

### **Effetti sulla salute**

Gli effetti sanitari di interesse nell'epidemiologia ambientale coprono un ampio spettro - da fastidio soggettivo a malattia manifesta o morte - e possono coinvolgere più di un sistema di organi (per esempio, il tratto respiratorio e il sistema nervoso centrale). (La misura degli effetti sulla salute è discussa nel Capitolo 5). Negli ultimi anni, in seguito allo sviluppo della biologia molecolare e della tossicologia, l'interesse si è indirizzato sempre più su variazioni pato-fisiologiche misurabili (segni subclinici) ed effetti dannosi precoci, piuttosto che su una malattia clinica palese. Esempi di effetti dannosi precoci includono indicatori biologici o "marcatori" di effetti genotossici, immunotossicità e danno neurologico. I marcatori di effetti precoci possono essere un valido aiuto per la prevenzione, particolarmente se si associano a cambiamenti reversibili.

Come ricordato nel Capitolo 1, gli effetti sulla salute causati da fattori ambientali possono essere acuti o cronici. Per esempio, l'inquinamento dell'aria può portare a disturbi acuti della funzionalità polmonare e a cancro del polmone. Gli effetti cronici sono spesso associati con esposizione a lungo termine, ma a livelli al di sotto di quelli ai quali si osservano gli effetti acuti. L'esposizione ripetuta può causare un effetto reversibile, ma può anche indurre un danno irreversibile, come, per esempio, la perdita permanente dell'udito in seguito a ripetute esposizioni al rumore. Studi su effetti reversibili sulla salute figurano in maniera considerevole nelle attuali ricerche di epidemiologia ambientale; ciò ha stimolato lo sviluppo di metodi speciali per il disegno e l'analisi degli studi. Questa particolare attenzione dipende dal fatto che i risultati di tali studi possono individuare strategie per la prevenzione secondaria o per il trattamento degli effetti reversibili.

Gli effetti sulla salute indotti da fattori ambientali possono avere una lunga latenza. Il controllo dei so-

pravvissuti alla bomba atomica di Hiroshima e Nagasaki ha mostrato che i periodi di latenza del cancro dovuto a esposizione a radiazioni ionizzanti variava da pochi anni (leucemia) a decenni (tumori solidi) (Miller, 1984). L'identificazione dei segni subclinici precoci di tossicità è quindi importante, in particolare se è probabile che gli effetti tardivi siano gravi. Tuttavia dati inadeguati sull'esposizione e l'aumentata difficoltà a controllare le variabili potenzialmente confondenti rendono gli studi epidemiologici sugli effetti sanitari a lungo termine particolarmente suscettibili di distorsione.

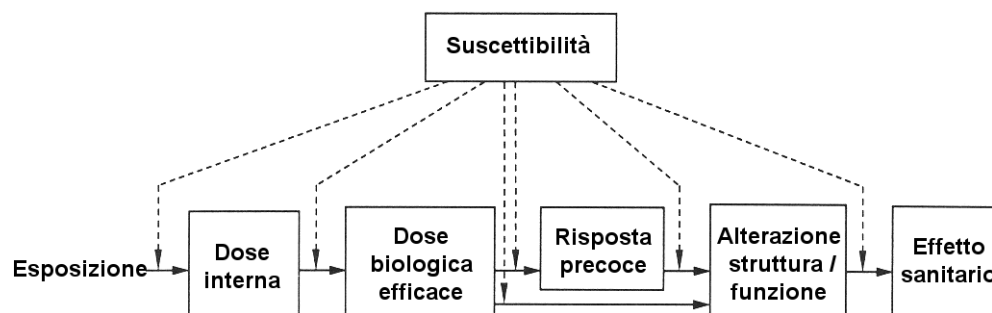
Gli effetti sulla salute possono essere **locali** (cioè, essi interessano la parte attraverso la quale l'agente entra nel corpo) o **sistemici** (cioè, essi colpiscono organi all'interno del corpo dopo assorbimento dell'agente). La comprensione degli effetti sistemici richiede conoscenze di fattori che riguardano l'acquisizione, il metabolismo e l'escrezione. L'**organo critico** è l'organo che per primo manifesta effetti dannosi in seguito all'esposizione a un agente ambientale dannoso. Per esempio, il cervello è l'organo critico per il metilmercurio e il piombo. Studi epidemiologici sugli effetti sugli organi critici conseguenti all'esposizione a fattori ambientali sono particolarmente utili per stabilire linee guida e standard di esposizione.

### Biomarcatori

Un **marcatore biologico** o biomarcatore può essere definito come qualsiasi parametro misurabile biochimico, fisiologico, citologico, morfologico o altro parametro biologico ottenibile da tessuti o fluidi umani, o gas espirati, che sia associato (direttamente o indirettamente) con l'esposizione a un inquinante ambientale (Griffith *et al.*, 1989). Molti, se non tutti, i tessuti nel corpo sono soggetti ad effetti nocivi in seguito a esposizione a contaminanti ambientali. I tessuti e i fluidi usati per misurare i biomarcatori includono sangue, urine, feci, denti, aria, saliva, liquido e cellule amniotici e sperma. Inoltre, per misurare l'esposizione si possono usare le unghie (per misurare il selenio, per esempio) e il tessuto adiposo sottocutaneo (per misurare i pesticidi organoclorurati solubili nei grassi quando sono disponibili campioni biotici). Un campionamento efficace talvolta necessita dell'uso di tecniche invasive. Sangue e urine sono i materiali più comunemente usati come biomarcatori. La descrizione di alcune specie di biomarcatori può essere trovata in Hulka *et al.* (1990), Schulte (1987) e Schulte e Perera (1993). La Figura 2.1 presenta la relazione fra esposizione e dose, variazioni biochimiche/fisiologiche precoci, struttura alterata e malattia.

I **biomarcatori di esposizione** includono misure di inquinanti o loro metaboliti in tessuti e fluidi corporei, e riflettono le quantità di inquinante che sono penetrate nel corpo umano; essi, pertanto, dovrebbero essere considerati indicatori di dose, ma la terminologia generalmente usata è ormai diventata "biomarcatori di esposizione". In linea di principio, tali biomarcatori sono determinanti della salute umana più diretti rispetto alle concentrazioni di inquinanti misurate nell'ambiente. In effetti, i biomarcatori di esposizione integrano l'esposizione derivante da tutti gli ambienti e per tutte le vie. Questa integrazione può essere uno svantaggio, tuttavia, se lo scopo di uno studio epidemiologico ambientale è quello di valutare l'importanza delle singole vie di esposizione ambientale. In tali casi, può essere necessario determinare la relazione fra il marcatore di dose e l'esposizione attraverso vie ambientali separate (Brunekeef *et al.*, 1983).

**Figura 2.1 Sequenza di eventi dall'esposizione all'effetto sulla salute**



Fonte: modificato da NRC, 1987

La tabella 2.3 illustra i biomarcatori usati per studiare l'esposizione al fumo passivo (ETS) (cioè fumo di tabacco in aria che può essere inalato da una persona diversa da quella che fuma), e fornisce i valori di nicotina e cotinina nel plasma, nella saliva e nelle urine nei fumatori, e in due categorie di non fumatori (cioè esposti o non esposti a ETS).

**Tabella 2.3 Nicotina e cotinina come marcatori biologici di esposizione a fumo di tabacco**

	Non fumatori senza esposizione ETS	Non fumatori con esposizione ETS	Fumatori attivi
	Media (No = 46)	Media (No = 54)	Media (No = 94)
Nicotina (ng/mL)			
nel plasma	1.0	0.8	14.8
nella saliva	3.8	5.5	673
nelle urine	3.9	12.1*	1750
Cotinina (ng/mL)			
nel plasma	0.8	2.0*	275
nella saliva	0.7	2.5**	310
nelle urine	1.6	7.7**	1390

Differenze tra non fumatori esposti a ETS comparati con non fumatori non esposti:

\* $p < 0.01$ ; \*\* $p < 0.001$

Fonte: modificato da NRC (1986); Jarvis et al. (1984)

Ogni tipo di biomarcatore ha le sue proprie caratteristiche cinetiche, determinate da fattori quali la solubilità in acqua, l'escrezione, l'accumulo nei tessuti e la trasformazione metabolica.

E' importante sapere fino a che punto un biomarcatore si correla alla durata e al tempo di esposizione. Ad esempio, il monossido di carbonio (CO) nell'aria espirata rappresenterà l'esposizione al CO che è avvenuta durante le poche ore precedenti. Avrebbe dunque un senso misurare il CO nell'aria espirata solo se lo studio si focalizzasse su effetti relativamente acuti. Al contrario, il piombo nelle ossa o nella dentina rappresenterà l'esposizione al piombo che è avvenuta in diversi anni, a causa del fatto che il piombo si lega a questi tessuti e, una volta che è entrato nel corpo, vi è conservato per molti anni. Questi biomarcatori di esposizione al piombo possono essere usati per studiare gli effetti cronici (es. danno neurologico e renale).

### **Box 2.2 Esposizione a piombo e sviluppo intellettuale dei bambini**

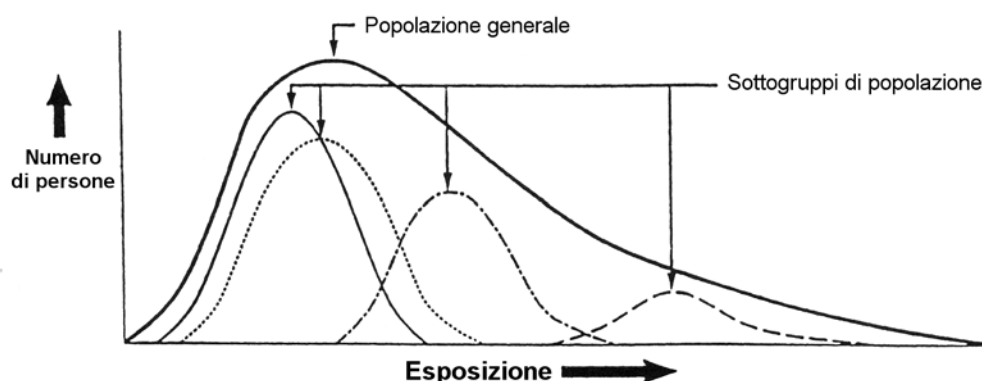
Lo Studio di Coorte di Port Pirie ha esaminato la relazione fra esposizione ambientale a piombo e sviluppo intellettuale dei bambini. Questo è un esempio di studio di epidemiologia ambientale basato su ripetute misure di dose interna di un marcatore biologico (piombo ematico). Il piombo è stato misurato nel sangue delle madri prima del parto, nel sangue del cordone ombelicale, e nel sangue prelevato da ciascun bambino all'età di 6, 15 e 24 mesi, e con cadenza annuale da quel momento in poi. E' stata creata una dettagliata registrazione longitudinale della dose interna che è stata poi collegata alle osservazioni sullo sviluppo intellettuale dei bambini.

Fonte: Baghurst et al., 1992.

La misurazione delle "esposizioni" con i biomarcatori di dose interna rende possibile acquisire livelli di esposizione individuale relativamente accurati. All'interno di una popolazione questi livelli individuali manifestano sempre una variazione, seguendo spesso distribuzioni normali o log-normali (Figura 2.2). La variazione fra specifici sottogruppi può identificare gruppi con differenti livelli di esposizione.



**Figura 2.2** Distribuzioni normale e log-normale nelle popolazioni



I biomarcatori possono rappresentare anche gli effetti avversi precoci o il danno a un sistema di organi. I marcatori di effetti riproduttivi, per esempio, includono un ridotto numero di spermatozoi, cambiamenti nella morfologia degli spermatozoi, mutageni nei fluidi corporei, e mutazioni delle cellule somatiche. I biomarcatori basati su parametri immunologici, come gli anticorpi, sono usati per valutare le malattie infettive e le malattie da ipersensibilità (allergia). I biomarcatori di effetti neurologici includono diminuzione dell'acetilcolinesterasi nel siero e nel plasma in seguito a esposizione a un pesticida organofosforico. Alcune misure, come gli addotti del DNA o delle proteine, e cromosomi fratelli o "sister chromatid exchange" (SCE) sono state usate come biomarcatori di carcinogenesi (Perera *et al.*, 1987; Hulka *et al.*, 1990; Perera *et al.*, 1991).

I **biomarcatori di suscettibilità** sono usati per dimostrare se una persona ha variazioni nel metabolismo di una sostanza chimica, sia genetiche che derivate dall'ambiente, che potrebbero influenzare l'impatto sull'organo bersaglio di una esposizione ambientale. Il polimorfismo genetico negli enzimi microsomiali, come il citocromo P<sub>450</sub>, che influenza il metabolismo di molte sostanze chimiche tossiche, è un esempio di un potenziale biomarcatore di suscettibilità. Persone con determinate forme genetiche di questi enzimi hanno una ridotta capacità di produrre proteine o enzimi necessari per metabolizzare sostanze chimiche estranee. In studi epidemiologici, i biomarcatori di suscettibilità possono migliorare la precisione e la forza delle presunte associazioni esposizione-malattia. Ciò è dovuto al fatto che essi evitano l'effetto di diluizione che avviene in popolazioni con un'ampia percentuale di persone non suscettibili e mostrano la variazione che può essere dovuta a differenze nella suscettibilità piuttosto che a differenze nelle esposizioni.

Dal punto di vista epidemiologico, un biomarcatore può servire come variabile dipendente in un progetto e come variabile indipendente in un'altro. Per esempio, in uno studio progettato per osservare gli effetti dell'esposizione a fosfina (un fumigante chimico) sul tasso di SCE in lavoratori impiegati nei silos del grano, il biomarcatore SCE potrebbe servire come variabile dipendente (o di risultato). Invece in uno studio progettato per ricercare la relazione tra esposizione a fosfina e insorgenza di cancro, il biomarcatore (SCE) potrebbe efficacemente essere usato per indicare l'esposizione e servire come variabile indipendente (o predittiva). Quando lo si considera come una variabile dipendente, un biomarcatore può servire per promuovere misure protettive, fino a far modificare o cessare l'esposizione pericolosa. Quando lo si considera come una variabile indipendente, un biomarcatore può essere visto come predittore di un effetto e può promuovere la comprensione del contributo relativo di esposizioni alla eziologia della malattia o dell'effetto in questione.

Tuttavia, indipendentemente dal fatto che un biomarcatore sia usato come una variabile dipendente o una variabile indipendente, esso dovrebbe essere giudicato in termini di **validità e affidabilità** (questa terminologia è riesaminata nel Capitolo 3). La validità comprende i concetti di sensibilità e specificità. L'affidabilità fa riferimento alla riproducibilità. Se i biomarcatori devono essere usati in uno studio di epidemiologia ambientale, i concetti di "sensibilità" e "specificità", in particolare, devono essere compresi chiaramente. La sensibilità si riferisce alla percentuale di persone veramente esposte che sono identificate dal biomarcatore come esposte. La specificità si riferisce alla percentuale di

persone veramente non esposte che sono definite come non esposte dal biomarcatore. Nel contesto dei biomarcatori, questi concetti si applicano anche ai metodi di laboratorio. La sensibilità del laboratorio si riferisce alla capacità del sistema di rilevamento di segnalare la presenza del biomarcatore. La specificità del laboratorio si riferisce alla capacità del sistema di rilevamento di non segnalare il biomarcatore quando questo è assente.

Schulte (1987) ha proposto di non usare biomarcatori negli studi epidemiologici fino a quando non siano stati fatti studi di validazione, compresa la determinazione di sensibilità, specificità e valore predittivo. Gli studi di validazione dovrebbero riguardare lo “spettro di popolazione normale” dei risultati, possedere un’adeguata dimensione del campione e controllare il confondimento. Inoltre, prima di includere il biomarcatore negli studi epidemiologici, sarebbe opportuno determinare, attraverso studi di laboratorio e sperimentali, la persistenza del biomarcatore in termini di esposizione recente o passata, come pure una plausibile spiegazione del meccanismo biologico coinvolto nell’evento sospetto.

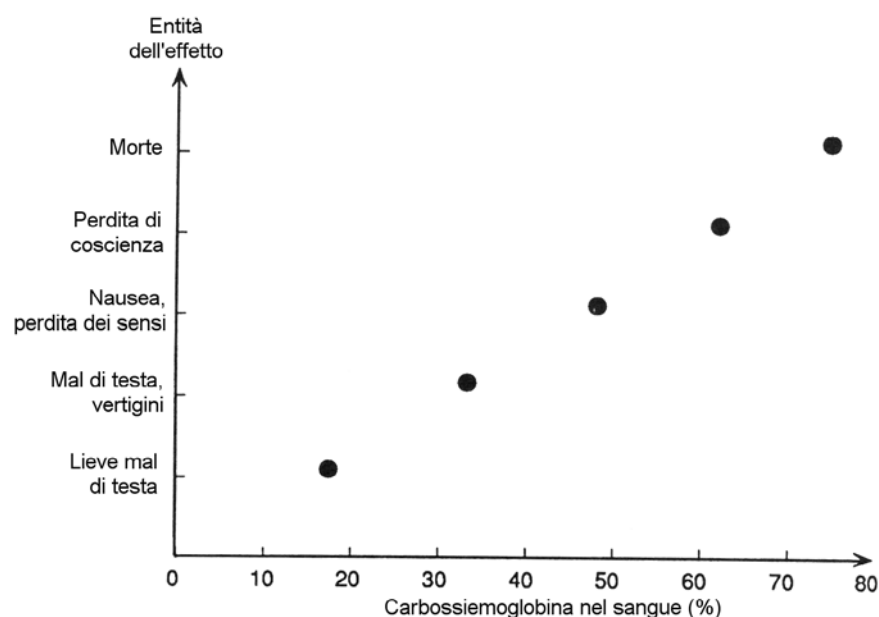
Sebbene la comunità scientifica abbia dimostrato grande interesse nell’applicazione della biologia molecolare a studi epidemiologici, l’interpretazione delle conclusioni si è dimostrata difficile. La raccolta dei campioni biologici dagli individui, nonché i costi che questa raccolta e l’analisi di laboratorio comportano, rappresentano dei problemi. Le difficoltà potenziali nello sviluppare progetti di studio appropriati e nell’identificare le popolazioni che accettano lo studio, stanno a significare che i biomarcatori non saranno molto applicati negli studi epidemiologici finché la fattibilità del loro uso non sarà valutata attraverso considerevole ricerca metodologica.

Si dovrebbe anche notare che l’uso di biomarcatori porta con sé l’esigenza del consenso informato. Il soggetto, l’epidemiologo e il tecnico laboratorista devono avere una chiara comprensione del test, della sua rilevanza nell’indagine e del contesto etico del suo uso.

### Relazione fra esposizione ed effetto

Distinguere fra relazione dose-effetto e dose-risposta è cruciale ai fini di una accurata valutazione degli effetti di una esposizione ambientale. Una relazione dose-effetto descrive la relazione tra dose e tipo o gravità dell’effetto in un individuo (vedi Figura 2.3). La gravità degli effetti conseguenti all’esposizione a un agente tossico aumenta con l’aumentare della dose: da un adattamento fisiologico a un danno irreversibile.

**Figura 2.3 Relazione dose-effetto**

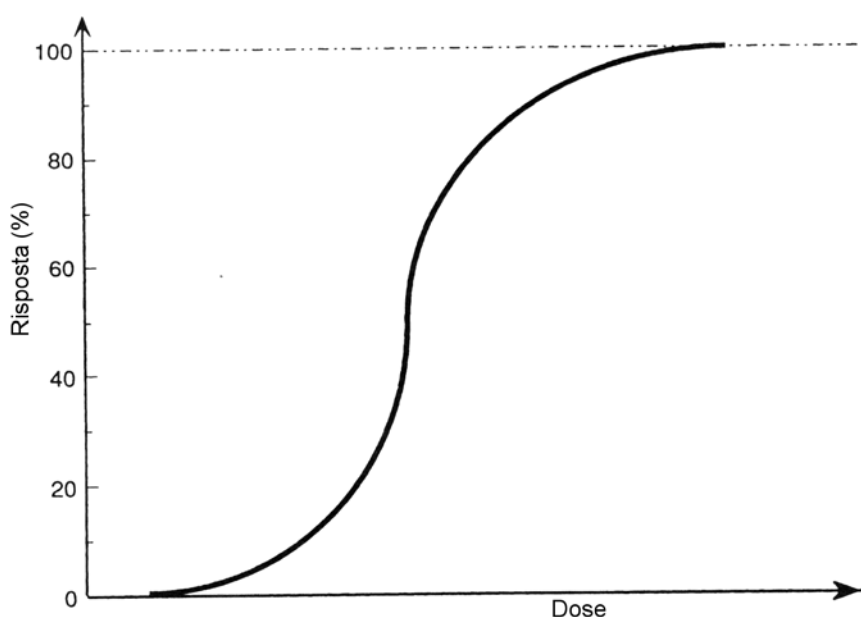


Fonte: Beaglehole et al., 1993

Caratterizzare un effetto sulla base di ciò che è stato osservato in un singolo individuo non è, tuttavia, generalmente sufficiente dato che la suscettibilità in una popolazione varia. Pertanto, la relazione dose-risposta si riferisce a una popolazione e descrive la probabilità di un effetto in funzione della dose. Le relazioni dose-risposta sono lo scopo primario degli studi epidemiologici.

In generale, la curva dose-risposta mostra come il rischio di un effetto sulla salute aumenti con l'aumentare della dose (vedi Figura 2.4). Inoltre, la forma di una particolare curva dose-risposta può indicare l'esistenza di una soglia, cioè che gli effetti avversi non avvengono fino a che una certa dose è stata raggiunta. Per le radiazioni ionizzanti, alcuni tipi di effetto, come la malattia da radiazione acuta, si sviluppano solo se è avvenuta un'esposizione a dosi molto alte. Ciò nonostante, non è mai stata identificata una dose di radiazioni al di sotto della quale non vi sia un rischio aumentato di cancro, che vuole dire che non esiste una soglia evidente per il rischio di cancro.

**Figura 2.4 Relazione dose-risposta**



Fonte: Beaglehole *et al.*, 1993

La relazione fra dose e risposta può essere modificata da fattori come età o sesso, o da altre esposizioni. Per esempio, i bambini sono particolarmente suscettibili agli effetti del piombo sul sistema nervoso centrale (WHO, 1995) e il fumo potenzia l'induzione del cancro del polmone associato con l'esposizione ad asbesto (Hammond *et al.*, 1979) e a radiazioni ionizzanti (Pershagen *et al.*, 1994 a; Pershagen *et al.*, 1994 b). Tale modificazione degli effetti può rendere difficile la generalizzazione delle conclusioni di un particolare studio per l'applicazione ad altre popolazioni. La modificazione degli effetti è discussa in modo più approfondito nel Capitolo 3 (la Tabella 3.3 mostra un esempio della interazione fra fumo di sigaretta e asbesto nel causare il cancro del polmone).

Come sottolineato precedentemente, le esposizioni incontrate nella popolazione generale possono essere relativamente basse e le relazioni dose-risposta incontrate in uno studio possono essere deboli. Il potere risolutivo di uno studio può allora essere aumentato inserendo selettivamente sottopopolazioni con una notevole percentuale di individui con elevata esposizione. Interessarsi di individui suscettibili può essere un altro mezzo per rilevare effetti che sarebbero più rari e dunque più difficili da osservare nella popolazione generale. Altre opzioni includono il miglioramento degli strumenti di misura dell'esposizione e dei fattori confondenti. Come sottolineato precedentemente, la specificità della valutazione del rischio per la salute è spesso cruciale. Uno studio di epidemiologia ambientale che mostra una relazione dose-risposta forte e precisa di solito fornisce una prova convincente per una azione preventiva.

## **2.3 Individui e popolazioni da studiare**

### **Ubiquitarietà di alcune esposizioni**

Se le esposizioni ambientali sono assai diffuse, può essere problematico identificare le popolazioni in modo tale che uno studio includa sia un sufficiente numero di individui ad elevata esposizione e un gruppo adeguato di non esposti di riferimento. Localizzazione geografica o altri criteri basati sulla popolazione per definire alti livelli di esposizione potrebbero non discriminare fra persone con differenti livelli di esposizione. Potrebbero essere necessarie misure di esposizione individuali, compresi i biomarcatori. Per esempio, marcatori biologici indicano che alcune esposizioni a fumo passivo sono assai diffuse anche fra persone conviventi con non fumatori (Rylander, 1994). Quindi, l'uso di una variabile come il fumo da parte del coniuge per stimare l'esposizione può produrre una sostanziale misclassificazione, portando a una diluizione dell'associazione apparente con gli effetti sulla salute.

La collaborazione multicentrica a livello nazionale e internazionale è un mezzo per ottenere una più ampia gamma di esposizione e un maggior numero di soggetti con la malattia rispetto allo studio di una sola area geografica. Per esempio, sono stati condotti, per valutare gli effetti acuti dell'inquinamento dell'aria negli asmatici, degli studi multinazionali che coinvolgevano diversi paesi europei, e che coprivano un'ampia gamma di esposizioni. In questi casi, la progettazione dello studio e tutti i protocolli dovrebbero essere concordati fin dall'inizio in modo che i risultati siano confrontabili. Altrimenti analisi "pooled" (centralizzate) di studi in corso, o meta-analisi di risultati pubblicati potrebbero essere affette da bias causato da differenze nei metodi di studio. Possono anche insorgere problemi nell'interpretazione di studi multicentrici nel caso in cui i risultati differiscano per località. E' quindi importante, quando si intraprendono questi tipi di studi, controllare accuratamente ogni altra differenza fra i centri partecipanti allo studio, che potrebbe influenzare i confronti della relazione esposizione-risposta.

### **Migrazione e altre caratteristiche socio-demografiche delle popolazioni**

La migrazione da aree rurali ad aree urbane durante la industrializzazione è diventata un importante fenomeno nella maggiore parte dei paesi in via di sviluppo (WHO, 1992d). Analogamente, sia nei paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo si è verificata una significativa migrazione transfrontaliera dovuta a trasferimento temporaneo o permanente di emigranti o lavoratori ospiti. Poiché la migrazione può influire sullo stato di salute, negli studi di epidemiologia ambientale possono presentarsi dei problemi se non si prende sufficientemente in considerazione questo fenomeno. Un'altra causa di distorsione è la migrazione, dovuta alla preoccupazione per il proprio stato di salute, da una area inquinata. Per esempio, se si conducesse uno studio per valutare l'impatto dell'inquinamento dell'aria urbana sulla induzione di asma nei bambini, l'associazione sarebbe sottostimata se le famiglie con atopia se ne fossero andate dalle aree urbane contaminate prima che lo studio avesse luogo.

In particolare, la migrazione può complicare lo studio di malattie con lungo periodo di latenza, dato che gli individui colpiti possono essersi allontanati dall'esposizione in questione al momento in cui la malattia associata diventava manifesta. D'altra parte, la migrazione può fornire informazioni preziose sul ruolo dei fattori ambientali sulla salute. Alcuni studi hanno confrontato tassi di malattie in popolazioni di emigranti con quelli della popolazione da cui gli emigranti provenivano (es. Giappone) e nell'area nella quale gli emigranti si erano trasferiti (es. USA). Tali studi comparativi possono distinguere fra fattori ambientali e genetici, dato che i fattori genetici non cambiano con la migrazione (vedi Tabella 2.4)

**Tabella 2.4 Rischi relativi di mortalità per cancro dello stomaco, fegato e colon fra uomini giapponesi in Giappone, immigrati giapponesi in California e figli di giapponesi immigrati confrontati con uomini bianchi in California, tra i 45 e 64 anni di età**

Sito tumorale	Rischio relativo (comparato con californiani di razza bianca)		
	Giapponesi in Giappone	Giapponesi immigrati in California	Figli di Giapponesi immigrati
Stomaco	8.4	3.8	2.8
Fegato	4.1	2.7	2.2
Colon	0.2	0.4	0.9

Fonte: Buell & Dunn (1965)

I fattori riguardanti lo stile di vita come uso di tabacco, consumo di alcool e abitudini alimentari, sono spesso dei forti determinanti dello stato di salute. E' noto che fattori socio-demografici possono determinare alcune delle esposizioni ambientali alle quali un individuo va incontro. Per esempio, l'esposizione al piombo nei bambini negli USA è spesso più elevata nelle aree urbane a basso reddito. Il tipo o la severità dell'effetto possono analogamente essere influenzati da fattori socio-demografici. Per esempio, l'assorbimento gastrointestinale di piombo è più elevato fra i bambini di famiglie povere la cui dieta è carente di calcio e ferro. Pertanto questi bambini possono non solo essere sottoposti a una esposizione più elevata al piombo, ma anche essere più suscettibili agli effetti di tale esposizione rispetto ai bambini di famiglie economicamente più agiate.

Caratteristiche socio-demografiche possono anche agire come confondenti, come è emerso da studi su esposizione al piombo e sviluppo intellettuale dei bambini. Per esempio, i bambini di famiglie con bassa condizione socioeconomica potrebbero andare incontro ad un'elevata esposizione al piombo, ma la limitata istruzione scolastica dei loro genitori potrebbe essere un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo intellettuale più lento di tali bambini. In questo caso, sarebbe necessario controllare analiticamente l'effetto dell'istruzione dei genitori in modo da poter determinare l'effetto dell'esposizione al piombo sullo sviluppo intellettuale dei loro bambini. Tuttavia, controllare gli effetti di fattori socio-demografici quando si studiano le esposizioni ambientali può essere difficile, perché questi fattori possono interagire con le esposizioni ambientali per vie complesse e indirette (vedi Box 2.3).

### **Box 2.3 Malattia di Chagas**

La malattia di Chagas è una malattia parassitaria debilitante assai diffusa nell'America Centrale e del Sud. L'infezione da parte del parassita *Trypanosoma cruzi* avviene tramite morso di cimici ematofaghe triatomidi, che sono il suo naturale vettore, o attraverso trasfusioni di sangue da donatori infetti. Si stima che 18 milioni di persone siano affette dalla malattia e circa 100 milioni siano a rischio. Oltre che causa rilevante di malattia cardiaca in alcuni paesi dell'America Centrale e del Sud, è, in molte aree, una delle cause principali di morte improvvisa in giovani persone apparentemente sane.

L'infezione spesso avviene in famiglie a basso reddito, in aree rurali dove le scadenti condizioni delle abitazioni forniscono le condizioni adatte per la riproduzione del vettore della malattia. Anche se considerata una malattia rurale, la migrazione dalla campagna verso le città da parte di molte persone infettate ha reso la malattia di Chagas una causa significativa di morbosità e di mortalità nelle aree urbane. Per esempio, sebbene il Distretto Federale in Brasile sia considerato privo di cimici Triatoma, si è notato che la malattia di Chagas rappresenta la causa di morte per circa una persona su 10 fra i 25 e 64 anni di età. Questo pone la malattia approssimativamente alla pari con il cancro, malattia cardiaca ed ictus, in termini di contributo alle cause di morte.

Fonte: WHO, 1992d.

### **Sottopopolazioni sensibili**

Esempi di sottopopolazioni sensibili sono rappresentati da persone con allergia e altri tipi di iperreattività. Basando gli studi su tali individui è possibile aumentare l'efficienza dello studio. Per esempio, nelle indagini sugli effetti acuti di particelle aerodisperse si potrebbero includere solo soggetti con asma.

La suscettibilità specifica può essere attribuibile a fattori ereditari. L'ereditarietà sembra essere importante in alcune condizioni come l'allergia ma, in generale, le esposizioni ambientali hanno una maggiore influenza sullo sviluppo di malattie. I fumatori sono spesso particolarmente vulnerabili agli effetti di esposizioni ambientali. Questo è dimostrato dalla stretta interazione fra esposizione al radon residenziale e cancro del polmone che è stata osservata in uno studio recente. Lo studio ha stimato che circa l'80 % dei casi di cancro polmonare correlati al radon avvengano fra fumatori (Pershagen *et al.*, 1994 a, 1994 b).

Le sottopopolazioni sensibili spesso costituiscono una considerevole percentuale della popolazione. Per esempio, un terzo di tutti i bambini ha qualche tipo di allergia o di iperreattività. La prevenzione degli effetti sulla salute in tali gruppi è pertanto di grande importanza in sanità pubblica e l'identificazione delle sottopopolazioni sensibili è cruciale per lo sviluppo di efficaci strategie di prevenzione. L'epidemiologia ambientale può aiutare a identificare le sottopopolazioni sensibili esaminando i tassi di malattia fra differenti sottogruppi di popolazione (classificate in base a caratteristiche personali, come l'età) che hanno esposizioni ambientali simili.

## **2.4 Etica nell'epidemiologia ambientale**

Per un epidemiologo ambientale, le questioni etiche includono la necessità di proteggere i soggetti dello studio e la necessità di informarli onestamente di tutti i possibili rischi e benefici. Le questioni etiche sono anche legate al disegno dello studio e alla pubblicazione dei risultati.

Gli epidemiologi prestano crescente attenzione alla problematica dell'etica. Ciò è parzialmente dovuto alla presa di coscienza del fatto che imprese e agenzie finanziate con denaro pubblico - molte delle quali impiegano epidemiologi - dovrebbero essere responsabili delle loro attività e interessi. Ciò detto, è stato solo recentemente (nella metà degli anni '80) che gli epidemiologi hanno aperto la discussione su considerazioni etiche nella loro professione (Soskolne, 1989). Gli epidemiologi ambientali hanno affrontato questo argomento addirittura più tardi. La International Society for Environmental Epidemiology (ISEE) ha stimolato la discussione su problemi etici quando ha istituito un Comitato di Supporto a Etica e Filosofia nel 1991. Adesso si presta considerevole attenzione ai problemi etici che sono specifici dell'epidemiologia ambientale (Beauchamp *et al.*, 1991; Coughlin, 1997; Coughlin & Beauchamp, 1996; Fayerweather *et al.*, 1991; Soskolne, 1993). Questo non significa che coloro che erano coinvolti in precedenza in questa area di ricerca o di pratica non si confrontassero con le principali questioni etiche. In realtà, la base etica dalla quale dipende l'epidemiologia ambientale è quella dell'utilitarismo, comune a molte altre professioni. Secondo questa teoria, un'azione dovrebbe essere basata sul principio di assicurare il maggior beneficio per il maggior numero di persone.

Dovrebbe essere sottolineato che il dibattito sullo sviluppo di linee guida etiche per l'epidemiologia ambientale si è focalizzato sulla protezione dei diritti dei soggetti studiati e la condotta etica degli epidemiologi in relazione al finanziamento e alla divulgazione di uno studio. Un problema di uguale importanza è la responsabilità etica di un epidemiologo di eseguire studi su potenziali fattori di rischio per la salute appena essi sono stati identificati o sospettati. Una decisione di non eseguire uno studio può essere non etica, particolarmente quando i dati necessari per lo studio sono facilmente disponibili. Per esempio, i dati raccolti nell'ambito di programmi di sorveglianza medica nell'industria potrebbero essere usati per stabilire nuove conoscenze epidemiologiche sui rischi occupazionali per la salute, ma pochi di questi programmi analizzano i dati in questo modo.

### **Linee guida etiche e legali per la ricerca**

Molte istituzioni accademiche e di ricerca e agenzie governative usano gruppi indipendenti per valu-

tare gli aspetti etici delle proposte di ricerca che si riferiscono alla partecipazione di esseri umani (come partecipanti volontari). In numerosi paesi, la legge protegge il diritto degli individui alla privacy e richiede che i partecipanti alla ricerca forniscano un “consenso informato”. Altrove, i requisiti sono meno stretti o inesistenti.

Qualunque sia la situazione, tuttavia, gli epidemiologi ambientali dovrebbero aderire ai codici etici della ricerca scientifica sviluppati in ambito internazionale, come quelli del Council for International Organizations of Medical Sciences, o adattarli alle situazioni locali, ogni volta che essi eseguono ricerche che coinvolgono soggetti umani (CIOMS, 1991 e 1993). Linee guida etiche e codici di comportamento professionale comprendono la preoccupazione non solo per i soggetti singoli e per il benessere pubblico, ma anche per il comportamento interpersonale fra professionisti. Per esempio, le *Ethical Guidelines for Epidemiologists* (Fayerweather *et al.*, 1991) dell'Industrial Epidemiology Forum comprendono:

- obblighi verso i soggetti inclusi nella ricerca;
- obblighi verso la società;
- obblighi verso le agenzie finanziatrici e i datori di lavoro;
- obblighi verso i colleghi.

Una dichiarazione nota come *La Risoluzione di Toronto* ha tentato di identificare gli elementi che ogni codice professionale e/o linea guida dovrebbe includere. L'intenzione è quella di fare in modo che le professioni siano al corrente delle implicazioni sociali delle loro attività e contrastino:

- pregiudizi;
- attività che causano impatti ambientali dannosi;
- azioni che minacciano i diritti umani individuali;
- azioni subordinate a interessi militari.

*La risoluzione di Toronto* insiste anche sulla necessità che i codici di condotta e le linee guida professionali:

- spieghino chiaramente i principi che sono alla base di ogni specifica linea guida;
- facciano riferimento alle misure atte a garantire la partecipazione attiva dei membri;
- stabiliscano i meccanismi per la segnalazione di violazioni del codice di comportamento e/o linee guida per proteggere chiunque segnali una violazione;
- prevedano le conseguenze per i partecipanti e per la società partendo dalla prospettiva della professione;
- comprendano sia l'attività professionale di base che quella applicata;
- specifichino le procedure per la “peer review” (revisione da parte di pari);
- raccomandino che tutti i principali risultati delle ricerche siano resi universalmente disponibili;
- raccomandino la diffusione di standard professionali al fine di incoraggiare la partecipazione degli studenti della disciplina.

### **Riservatezza e privacy**

In epidemiologia, “riservatezza” si riferisce alla protezione della privacy del singolo soggetto o partecipante, e alla garanzia che le notizie mediche che lo riguardano non saranno rivelate ad alcuna parte terza. Senza informazioni mediche, lo studio epidemiologico non può essere eseguito, così l'accesso deve essere assicurato in modo etico, generalmente richiedendo il consenso da parte del paziente. In molte investigazioni cliniche, la richiesta del permesso di utilizzare informazioni personali può essere presentata direttamente al paziente. In altri tipi di indagine possono verificarsi situazioni diverse. Alcuni studi epidemiologici richiedono che siano esaminati solo dati esistenti o storici di grandi gruppi di individui; non è necessario il contatto diretto con gli individui per gli scopi dello studio. In questo caso, una richiesta di permesso per l'utilizzo di informazioni personali può essere molto difficile. In realtà, se gli individui hanno traslocato, o se c'è l'eventualità che siano morti, può essere difficile, o impossibile, contattarli per avere accesso ai loro dati medici; tentare di farlo potrebbe far aumentare in modo considerevole i costi e la complessità dello studio. Inoltre, se molti individui non possono essere contattati, il tasso di partecipazione può essere molto più basso di quello

ottenibile in indagini che sono basate dal loro inizio sul contatto con i singoli pazienti o casi. Tale bias di non partecipazione può minare la validità di uno studio in modo considerevole.

I problemi che riguardano la riservatezza possono essere difficili da risolvere. Ciò perché le necessità di una società nel suo complesso possono essere in conflitto con quelle dei suoi singoli membri. Un importante esempio è l'uso di dati medici esistenti per condurre indagini epidemiologiche. In questo caso, i benefici per la società derivati dai dati dello studio devono bilanciare la perdita potenziale di privacy dei pazienti. Anche se il tipo di informazione che si deve ottenere dai dati medici del paziente è relativamente non sensibile (es. pressione sanguigna), coloro che trattano i dati potrebbero venire a conoscenza di informazioni più sensibili (es. storia psichiatrica, test per malattie veneree, marcatori genetici). Se si possono garantire dei ragionevoli controlli, per quel che riguarda l'accesso ai dati medici può essere sufficiente un accordo con lo staff ospedaliero appropriato. Per rafforzare la garanzia di riservatezza nel trattamento dei dati medici, si può stabilire che i responsabili dell'estrazione dei dati prestino un giuramento col quale s'impegnano a non rivelare a terzi i dati di cui vengano a conoscenza.

Problemi di riservatezza di informazione possono anche essere legati a gruppi di persone o specifiche popolazioni. Per esempio, è talvolta necessario evitare la identificazione precisa di piccoli gruppi di individui, come quelli che vivono in un'area definita, o che costituiscono una minoranza. Può anche essere necessario proteggere gruppi di medici e infermieri che sono coinvolti nella cura di pazienti, e talvolta anche istituzioni mediche o le regioni da esse servite.

Una preoccupazione generale riguardante la riservatezza può comportare la negazione dell'accesso alle informazioni mediche riguardanti singoli pazienti. Ciò può avvenire anche se le identità dei pazienti e dei medici sono state rimosse: per esempio, se l'informazione era stata in origine raccolta per uno scopo diverso e il consenso esplicito per lo studio successivamente proposto non era mai stato ottenuto. Tuttavia, se un medico e un comitato di revisione etica sono convinti che l'aver accesso ai dati medici sia giustificabile, questo problema può essere superato. Può essere fornita una garanzia ragionevole per proteggere la riservatezza di dati medici individuali e possono essere date adeguate assicurazioni che le informazioni saranno usate solo per scopi statistici e nell'interesse del bene comune. In questi casi, i dati identificativi personali sono spesso cancellati dopo che i dati sull'esposizione e sugli esiti sono stati collegati per poter essere analizzati.

Fino a un periodo relativamente recente, la società era salvaguardata non solo dalla riluttanza di molti medici a divulgare informazioni personali, ma anche dal fatto che i mezzi di accesso, trasferimento e collegamento delle informazioni non erano molto sofisticati. Lo sviluppo della tecnologia del computer ha cambiato incredibilmente questo quadro e la riservatezza di informazioni mediche immagazzinate in sistemi di informazione computerizzati sta dando origine a questioni etiche ancora più complesse. Vi è la questione legale su chi è "proprietario" dei dati medici: il medico, il paziente o l'autorità sanitaria? E il possesso si applica al foglio sul quale il dato è scritto o alla informazione di per se stessa? Ulteriori difficili domande si collegano al diritto legale di accesso e al diritto legale di negare l'accesso a queste informazioni.

### **Responsabilità sociale di proteggere, informare e fornire benefici**

Gli epidemiologi ambientali hanno la responsabilità sociale di fare in modo che il lavoro che essi hanno intrapreso sia vantaggioso per le comunità e il pubblico per cui essi lavorano, e che i benefici di tale lavoro superino abbondantemente qualsiasi rischio che potrebbe essere presente.

La valutazione rischio-beneficio di uno studio proposto dovrebbe pertanto tener conto di fattori culturali, quali le tradizioni e le considerazioni sulla rilevanza e importanza della ricerca. Se una popolazione va incontro a qualche rischio partecipando a uno studio, ogni beneficio che deriva dal completamento della ricerca dovrebbe essere usufruibile da tale popolazione.

Ciascun partecipante dovrebbe essere informato in dettaglio dei risultati dello studio che lo/la riguardano e della interpretazione di tali risultati. Questi ultimi dovrebbero essere tenuti strettamente riser-



vati e non dovrebbero essere divulgati, neanche al medico di famiglia, se non con previa autorizzazione scritta del partecipante. Il partecipante dovrebbe avere il diritto di essere informato di ogni effetto avverso che lo/la riguarda e che sia stato scoperto durante lo studio. Un singolo paziente o soggetto può trarre beneficio direttamente dalla partecipazione a uno studio se, per esempio, vengono riscontrate una malattia o una suscettibilità precedentemente non diagnosticate. In caso contrario, se non viene trovata nessuna anomalia, il soggetto può essere rassicurato.

Far sapere, invece, ai partecipanti che hanno contratto una malattia, che non può essere trattata in modo efficace, può essere controproducente. Analogamente, se non è stata trovata alcuna anomalia, potrebbe non essere compreso il valore transitorio e limitato di un esame negativo e dunque la eventuale necessità di ripetere gli esami. Inoltre, soggetti a cui sono state riscontrate e segnalate anomalie potrebbero vedersi negate le possibilità di un lavoro o di un'assicurazione. Questioni relative al consenso informato sono trattate ulteriormente nel Capitolo 8.

### **Regole di Trasparenza**

Il leader di un gruppo di studio è responsabile della divulgazione dei risultati (con relativa interpretazione) ai partecipanti allo studio, al pubblico, a politici e legislatori e alla comunità scientifica. Se lo studio si è rivelato imperfetto o se i risultati possono indurre ad interpretazioni errate, gli epidemiologi devono indicare chiaramente gli aspetti non soddisfacenti dello studio, in modo che il pubblico e coloro che devono prendere decisioni non siano fuorviati. Ne consegue che, per quanto possibile, tutte le parti interessate dovrebbero essere incoraggiate a contribuire al dibattito riguardante l'interpretazione dei dati dello studio.

Una volta che si è tratta una conclusione circa la relazione di una misura di effetto biologico con una data quantità di esposizione, si può procedere con un dialogo più ampio. L'epidemiologo dovrebbe giocare il ruolo di "espositore" in questo dialogo, riconoscendo però che l'evidenza presentata rappresenta solo un fattore. Quando la discussione si estende oltre il regno dell'epidemiologia per includere fattori economici o sociali, l'epidemiologo può parlare solo in qualità di cittadino ordinario.

Sfortunatamente, fattori estranei possono oscurare l'evidenza scientifica e determinare preoccupazioni ingiustificate. Per esempio, lo sponsor della ricerca potrebbe influenzare la divulgazione dei risultati, oppure il ricercatore potrebbe fornire risultati incompleti per paura che la comunità coinvolta e che ha degli interessi in merito sia turbata dai risultati stessi. L'unico modo di evitare sistematicamente in modo corretto queste evenienze è di stabilire delle regole di trasparenza da parte della comunità scientifica e di incoraggiare al massimo lo scambio delle informazioni. Ci si deve attendere che i responsabili delle misure, valutazioni e interpretazioni siano impegnati ad assicurare l'integrità scientifica.

### **Comunicazione con il pubblico**

Una relazione sui risultati di uno studio deve essere preparata con un linguaggio scientifico preciso ed accurato. Spesso viene anche richiesta una relazione semplificata da presentare ai politici, al pubblico e in alcuni casi ai mass-media. Tuttavia, dato che questo ultimo tipo di relazione ometterà per necessità molti dettagli tecnici, il rischio di una cattiva interpretazione può essere elevato. Gli scienziati e gli epidemiologi che sono stati coinvolti nello studio originale dovrebbero quindi rivedere ed approvare tale materiale. Può essere necessario, durante la presentazione della relazione, rendere esplicite le limitazioni dell'approccio epidemiologico, e la necessità di ulteriori studi prima di tirare conclusioni definitive.

Un'indagine epidemiologica può produrre un risultato basato su analisi di dati descrittivi o trasversali, ma richiedere comunque la conferma da parte di uno studio di follow-up o caso-controllo. In assenza di questi ultimi studi, ai ricercatori rimarrebbe il dilemma se pubblicare o no i risultati dell'analisi iniziale. Il pubblico potrebbe essere allarmato dalle conclusioni iniziali, tanto che ne potrebbero conseguire delle ripercussioni. Per esempio, il valore economico della proprietà può declinare in un'area nella quale è stato individuato un particolare inquinante ambientale, oppure gli abitanti possono lasciare una tale area. D'altra parte, nascondere l'informazione può essere inopportuno. Nel-

la maggior parte delle società, dovrebbe essere possibile spiegare i punti di forza e le limitazioni di un dato iniziale, così che ogni preoccupazione venga ridimensionata, in attesa dell'esito di uno studio più definitivo.

## **2.5 Decidere se intraprendere uno studio epidemiologico**

Spesso in epidemiologia ambientale si deve decidere se condurre uno studio vero e proprio o semplicemente basarsi sulle conoscenze correnti. Questo spesso accade quando si osserva un cluster o un eccesso locale di malattia. Se è disponibile un chiaro insieme di prove, uno studio epidemiologico può non essere giustificato. Spesso sono necessari dati descrittivi locali ("conteggio degli individui") per convincere coloro che prendono le decisioni che l'azione preventiva è utile.

In molti paesi, i media e il pubblico in generale hanno incominciato a interessarsi sempre più della comparsa di raggruppamenti spazio-temporali di cancro, di malattie respiratorie e di malformazioni congenite. Negli USA, vi sono circa un migliaio di segnalazioni di questi tipi di effetti sulla salute ogni anno. Ma anche per una economia così sviluppata, lo studio in profondità di tutte queste segnalazioni sarebbe impossibile. Esse richiederebbero enormi risorse umane e finanziarie con pochi risultati utili previsti (Wartenberg & Greenberg, 1992). I seguenti punti dovrebbero quindi essere presi in considerazione prima di procedere a uno studio epidemiologico ambientale su ampia scala:

1. confermare che esistono esposizione umana o effetti sulla salute;
2. condurre una valutazione iniziale del rischio;
3. definire lo scopo della conduzione dello studio;
4. valutare la fattibilità dello studio;
5. assicurarsi che lo studio soddisfi le esigenze etiche.

### **Confermare l'esistenza dell'esposizione umana o degli effetti sulla salute**

Se vi è un sospetto che sia scoppiata un'epidemia, è prioritario accertare se ciò sta avvenendo davvero e chiarire le caratteristiche della malattia. Quando l'epidemia è stata confermata, rimane da determinare se si sta verificando una qualche esposizione della popolazione umana. Queste condizioni devono essere soddisfatte con un ragionevole grado di certezza perché uno studio vero e proprio sia giustificato. Due esempi illustrano questo processo. In una città della Turchia di 400 persone, un medico diagnosticò in due persone un mesotelioma. Ulteriori indagini relative ai quattro anni precedenti individuavano un totale di 23 morti per mesotelioma. La fonte potenziale di esposizione risultò essere una vicina cava, alla quale l'intera popolazione della città era stata probabilmente esposta. Lo studio di questo cluster di malattia portò all'identificazione di un nuovo cancerogeno: il minerale erionite (Baris *et al.*, 1978). Un esito diverso emerse dall'indagine di malformazioni congenite e basso peso alla nascita nell'Area della Baia di S. Francisco negli USA (Shaw *et al.*, 1992). E' stata valutata la distribuzione sulla base delle potenziali fonti di esposizione indiretta a differenti inquinanti del terreno e dell'acqua. Ulteriori indagini dimostrarono che non vi era associazione e che l'esposizione ad agenti specifici non era significativa.

In altre situazioni, gli eventi sanitari o le malattie che vengono riscontrate possono non essere insolite, però viene riportato un presunto aumento della loro incidenza. Pertanto, studi epidemiologici sono spesso richiesti da comunità che credono che potenziali esposizioni ambientali abbiano causato un elevato tasso di incidenza di cancro, o problemi sanitari come malformazioni. Membri della comunità a volte identificano casi la cui esistenza induce alla percezione di un rischio aumentato. Prima d'intraprendere uno studio, l'epidemiologo dovrebbe confermare se i casi identificati sono validi e se gli effetti sanitari possono essere dovuti in modo plausibile alle esposizioni in questione. Potrebbero essere disponibili dati già esistenti sulle esposizioni ambientali e sugli effetti sulla salute, ma più spesso è necessario compiere qualche sforzo per valutare le esposizioni riportate e gli effetti sulla salute. I ricercatori dovrebbero resistere alla tentazione di imbarcarsi in uno studio basato puramente sulle preoccupazioni della comunità con scarsa o nessuna prova di probabili esposizioni umane o esiti sulla salute biologicamente plausibili.

### **Condurre una valutazione iniziale del rischio**

I cluster giungeranno generalmente all'attenzione dei responsabili della sanità in uno dei seguenti due modi:

- un cittadino o un professionista della sanità preoccupati possono percepire un numero di casi superiore a quanto ci si sarebbe aspettato, spesso in associazione con un fattore di rischio sospettato;
- una comunità richiede una revisione dei dati di malattia in relazione a un certo fattore di rischio la cui esistenza preoccupa, per decidere se esiste un eccesso di rischio.

Per occuparsi di tali questioni, l'epidemiologo ambientale dovrebbe partire con una valutazione iniziale di rischio. Ciascun problema ambientale implica un maggiore o minore rischio per la salute umana. La valutazione del rischio è il processo con cui sono stimate la forma, la dimensione e le caratteristiche di questo rischio (Loehr & Lash, 1990; Aldrich & Griffith, 1993). Quindi, una valutazione generale del rischio in questione dovrebbe essere fatta prima di intraprendere uno studio epidemiologico ambientale. Partendo con metodi di impatto ambientale efficienti e veloci, può poi essere fatto un controllo, usando metodi statistici di base, per accertare se l'evento in questione ha una incidenza più elevata di quella attesa (Neutra *et al.*, 1992; Badii *et al.*, 1994). Questo è più difficile per gli eventi rari (es. cancro) che per quelli più comuni (es. diarrea o eventi riproduttivi).

### **A quali domande potrebbe dare risposta uno studio?**

Studi di epidemiologia ambientale sono intrapresi per varie ragioni, come descritto nel paragrafo 2.1.1. Gli epidemiologi dovrebbero comprendere la motivazione che porta ad eseguire uno studio e valutare se lo studio può essere in grado di rispondere ai problemi in questione. Ci sono più possibilità che gli studi siano produttivi se sono basati su ipotesi stabilite in modo chiaro. Nella maggior parte dei casi, l'ipotesi è che esiste un'associazione fra una esposizione ambientale e un evento sanitario chiaramente specificato. Le associazioni causali possono essere dimostrate più chiaramente se è possibile un confronto fra gruppi che sono stati esposti a diversi livelli dell'agente ambientale. Se possibile, quindi, dovrebbero essere valutate ipotesi esplicite sulla forma della relazione esposizione-risposta.

Dovrebbero anche essere identificati gli obiettivi specifici da raggiungere. La formulazione degli obiettivi dovrebbe stabilire con chiarezza i problemi da valutare, il possibile limite dello studio, la natura della popolazione dello studio e le principali esposizioni e le variabili degli eventi sanitari che devono essere valutati.

I leader delle comunità devono essere identificati e coinvolti in ogni studio fin dall'inizio come parte del gruppo di ricerca o del comitato direttivo del progetto di ricerca (ATSDR, 1990). Questo garantirà, nel caso in cui lo studio sia intrapreso, che saranno affrontati i problemi di interesse per la comunità. Se si stabilisce un dialogo fra i leader della comunità e i responsabili dello studio, il chiarimento dei fattori di rischio e la progettazione di programmi di intervento efficaci procederanno più in fretta. Pertanto, i leader della comunità dovrebbero essere consultati anche prima che sia presa la decisione di intraprendere uno studio.

### **Problemi di fattibilità e considerazioni etiche**

Una volta stabilito che la situazione potenzialmente implica un'esposizione e degli effetti sanitari, e poste le problematiche dello studio, il passo successivo è quello di valutare se uno studio epidemiologico può essere eseguibile. Questo dipenderà ampiamente dalle risorse, dal personale e dalle informazioni esistenti disponibili per accedere ai dati di esposizione, dal tipo di metodi di studio che devono essere usati e se i dati sono storici o attuali. Inoltre, può essere utile verificare la possibilità di identificare marcatori iniziali di esposizione o malattia. La scarsità di eventi sanitari e la bassa probabilità di esposizione possono precludere il successo di uno studio, o aumentare i suoi costi e la durata del tempo richiesto per intraprenderlo. Si dovrebbero prendere, quindi, in considerazione i seguenti problemi:

- tipi di dati che devono essere raccolti;

- accesso ai dati esistenti;
- dimensione richiesta della popolazione dello studio;
- disponibilità di una adeguata struttura di campionamento per selezionare la popolazione in studio;
- capacità di misura dei fattori ambientali e degli eventi sanitari;
- abilità nell'identificare e controllare i fattori confondenti e i modificatori d'effetto;
- disponibilità di personale e risorse.

Quando si decide se intraprendere uno studio, l'epidemiologo dovrebbe tentare di prevedere la gamma dei possibili esiti dello studio e considerare come possono essere usati i risultati. In linea di principio, dovrebbero essere evitati studi che potrebbero produrre risultati inconcludenti. In molti casi, uno studio modesto ma chiaramente eseguibile produrrà risultati più utili di uno studio che tenta di trovare una conclusione definitiva che, però, può non essere eseguibile.

Inoltre, devono essere presi in considerazione gli aspetti etici della conduzione di uno studio, discussi precedentemente. I soggetti dello studio devono essere protetti da qualsiasi danno non necessario, compresa la perdita della riservatezza, e devono essere informati dei possibili rischi e benefici. Dal punto di vista dei partecipanti allo studio e della comunità nel suo insieme, lo studio dovrebbe produrre più benefici che danni e dovrebbe ragionevolmente poter affrontare problemi d'interesse per la comunità stessa. In breve, le considerazioni etiche dovrebbero fare da guida nella decisione di intraprendere uno studio, in ogni fase della sua conduzione e nel trasmetterne i dati.

### 3 RIEPILOGO DEI PRINCIPI EPIDEMIOLOGICI

#### *Obbiettivi didattici*

Questo capitolo riassume concetti epidemiologici e metodi che dovrebbero essere già familiari allo studente, il quale, dopo aver letto questo capitolo, dovrebbe:

- essere in grado di definire ed applicare le seguenti misure nella popolazione: tasso d'incidenza, proporzione d'incidenza (rischio o incidenza cumulativa) e proporzione di prevalenza;
- essere in grado di definire ed applicare misure di associazione e di impatto della malattia sulla popolazione, del tipo: rapporto di tassi (incidenza relativa), rapporto di rischi (rischio relativo), odds ratio e rischio attribuibile;
- capire i concetti di precisione, errore casuale e campionamento sulla popolazione;
- capire i principi della modificazione di effetto, validità, errore sistematico e confondimento;
- essere in grado di identificare e spiegare i criteri della causalità in un contesto di igiene ambientale.

#### **3.1 Concetti di popolazione**

Una premessa fondamentale in epidemiologia è che la malattia non insorge necessariamente per caso nella popolazione umana. E' possibile identificare le cause di una malattia studiando modelli di insorgenza fra popolazioni diverse, in particolare, paragonando gli eventi sanitari nelle popolazioni esposte con quelli nelle popolazioni non esposte. E' importante capire i concetti di popolazione usati negli studi di epidemiologia, poiché le popolazioni umane ne sono la base. La figura 3.1 mostra la relazione fra i termini chiave usati in questo testo per fare riferimento alle popolazioni negli studi epidemiologici. La **popolazione generale** si riferisce a tutti gli individui, teoricamente nel mondo, ma in generale intendendo quelli di un'area specifica, come un paese o una regione.

La **popolazione a rischio** è costituita dagli individui nella popolazione generale che potrebbero sviluppare la malattia oggetto dell'indagine. Coloro che hanno già una malattia non sono a rischio di svilupparla perciò sono esclusi dalla popolazione a rischio. Anche gli individui che hanno contratto precedentemente una malattia infettiva, ad esempio il morbillo, e sviluppano un'immunità contro una re-infezione non sono a rischio. La popolazione a rischio può essere limitata a un solo sesso nel caso di malattia legata al sesso, come il cancro alla prostata nei maschi o all'utero nelle femmine. Anche fra la popolazione teoricamente a rischio può esistere una notevole variazione del rischio stesso ed è quindi probabile che molti ricercatori si concentrino solo su un sottogruppo di popolazione. Per esempio, la maggior parte degli studi sul cancro al seno riguarda esclusivamente le donne, nonostante anche gli uomini lo possano contrarre.

**Figura 3.1 Concetto di popolazione in epidemiologia**



Non è necessario e nemmeno consigliabile studiare l'intera popolazione a rischio per valutare le associazioni epidemiologiche fra esposizioni e malattia. Per esempio, sebbene l'intera popolazione sia a rischio di infarto miocardico, nei bambini esso è estremamente basso. Pertanto uno studio epidemiologico deve definire una più limitata popolazione a rischio. Un esempio potrebbe essere lo studio dell'infarto miocardico solo su persone oltre i 40 anni. Le popolazioni possono essere limitate anche geograficamente (es. persone di una particolare regione), per sesso o altre caratteristiche. Il risultato della selezione è la **popolazione target**. Quest'ultima è quella popolazione cui i risultati dello studio saranno probabilmente generalizzati. Per esempio, lo studio del rischio di infarto miocardico dovuto, a un'esposizione ambientale in una popolazione maschile di 40-50 anni, può essere interpretato solo in termini del rischio esistente nella popolazione "target" che corrisponde a tutti i maschi di età compresa fra 40 e 50 anni.

La **popolazione fonte** è la popolazione a rischio dalla quale verranno campionati i partecipanti allo studio. E' strettamente correlata alla popolazione target e molti ricercatori li considerano termini sinonimi. Tuttavia, in pratica, il termine popolazione fonte è usato in termini più operativi. Continuando con l'esempio precedente, la popolazione target può essere definita la popolazione maschile di 40-50 anni che vive in una particolare regione di un particolare paese, ma la popolazione fonte può essere limitata a coloro che hanno accesso a cure mediche nel caso dovessero sviluppare la malattia. Individuare la popolazione fonte è importante negli studi di epidemiologia poiché è la popolazione cui è applicabile il risultato di uno studio. I ricercatori potrebbero poi considerare meccanismi biologici, dati tossicologici e altre informazioni per stabilire se i risultati di uno studio possono essere estesi alla popolazione fonte, alla popolazione target o ad una più ampia a rischio.

Come descritto in seguito, una considerazione fondamentale nei rilievi epidemiologici non è solo il numero di individui che sviluppa un dato di salute, ma anche il tasso con cui il dato si verifica. Pertanto il concetto di popolazione in epidemiologia comprende sia il numero di persone che il periodo di tempo di osservazione. Il **periodo a rischio** è il tempo totale durante il quale gli individui della popolazione fonte sono a rischio di sviluppare l'evento di interesse. Il periodo a rischio è quantificabile in "tempo-persona" a rischio, dal momento che comprende sia il numero di individui che la durata del tempo in cui ogni individuo è a rischio. Per esempio, una po-

popolazione di 200 maschi che rimangono a rischio per 10 anni rappresentano 2000 anni-persona a rischio.

La **popolazione in studio** consiste di individui selezionati e inclusi nello studio. Per esempio, i ricercatori possono usare un registro tumori per campionare i maschi fra i 50 e i 65 anni che sviluppano cancro ai polmoni in una determinata regione durante uno specifico periodo di tempo. La popolazione fonte include tutti i maschi fra i 50 e i 65 anni che vivono in quella regione e che potrebbero sviluppare cancro ai polmoni in quel periodo di tempo; il periodo di studio è l'intervallo di tempo totale durante il quale i soggetti della popolazione fonte sono a rischio, mentre la popolazione in studio include solo le persone effettivamente reclutate per lo studio.

Come è descritto nel Capitolo 6, i vari disegni di studio epidemiologico differiscono in base al modo di campionare la popolazione in studio dalla popolazione fonte. In uno studio di coorte (vedi paragrafo 6.2) viene estratto un campione di individui a rischio dalla popolazione fonte. Questa popolazione viene seguita nel tempo per misurare tra i membri l'insorgenza dell'evento sanitario di interesse. Il tempo-persona di osservazione nel follow-up di una coorte è il **periodo di studio** (analogo al periodo a rischio nella popolazione fonte). La popolazione in studio e il periodo in studio sono direttamente osservabili dal momento che gli individui nello studio sono concretamente sotto osservazione. In uno studio caso-controllo (vedi paragrafo 6.2) la popolazione in studio è costituita da un campione di casi e di non-casi (o controlli) relativi al periodo a rischio, o all'esperienza "tempo-persona" della popolazione fonte. L'ipotetica popolazione complessiva in uno studio caso-controllo non è direttamente osservata, ma è concettualmente identica alla popolazione in studio in uno studio di coorte.

Va ricordato che non tutti gli epidemiologi sono concordi su una terminologia standard per tutti questi concetti di popolazione e base dello studio. Per esempio, potrete trovare il termine "base di popolazione" in letteratura; si riferisce alla popolazione in studio in uno studio di coorte (Miettinen, 1985).

### **3.2 Misure di salute nelle popolazioni**

Come evidenziato in *Basic Epidemiology* (Beaglehole *et al.*, 1993), le ricerche epidemiologiche si basano sulla quantificazione dell'insorgenza degli eventi di malattia o salute nelle popolazioni. La misura più scarna della frequenza di malattia è un semplice conteggio degli individui affetti. Questa può essere usata per evidenziare una tendenza allo sviluppo di epidemie e per quantificare un problema di salute specifico per una determinata area geografica. Tuttavia il numero di persone che hanno contratto una malattia non ha di per sé generalmente valore informativo a meno che non si abbiano a disposizione ulteriori notizie sulla popolazione. Esistono delle eccezioni rappresentate da condizioni rare, quali la febbre emorragica Ebola, per cui ogni caso può essere così inatteso da meritare attenzione. Per studiare la frequenza di una malattia si devono conoscere le dimensioni della popolazione a rischio e il periodo durante il quale un numero di casi è stato osservato. La frequenza della malattia può essere calcolata come funzione del numero di eventi per unità di popolazione (es. casi/1000 persone; casi/100.000 persone per il tempo) che può essere uno specifico periodo o un determinato momento esatto.

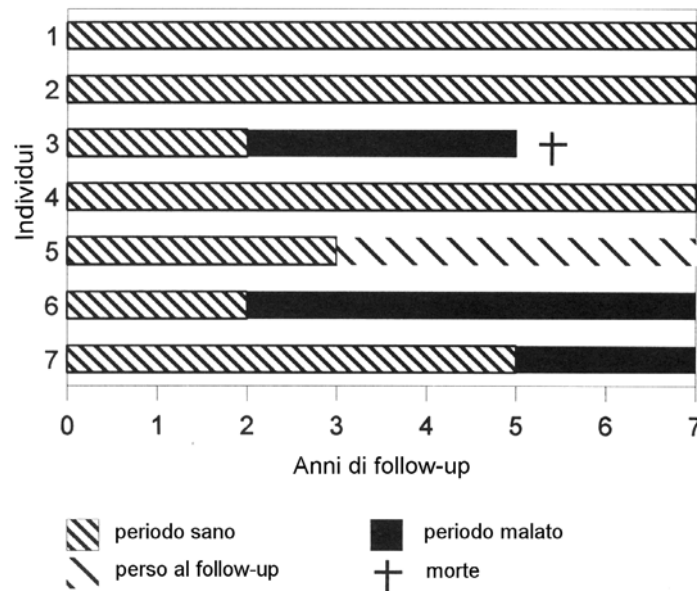
La frequenza della malattia è espressa come **prevalenza**, quando si basa sul numero di casi di malattia esistenti in un certo momento, o come **incidenza**, quando è basata sul numero di nuovi casi che insorgono in un dato periodo. Le definizioni specifiche di queste misure di occorrenza di malattia sono state sviluppate in relazione a come si osservano i casi e le popolazioni.

#### **L'incidenza**

Probabilmente la misura più comune per frequenza di malattia è il **tasso di incidenza** (tempo-persona) (Miettinen, 1985; Rothman & Greenland, 1998). Si tratta di una misura di frequenza per unità di tempo, basata sull'osservazione di una popolazione nel tempo, per determinare il

numero di individui che sviluppano la malattia in studio. Nella Figura 3.2 è presentato il periodo di studio di un'ipotetica popolazione. Le persone entrano a far parte dello studio in un anno determinato e alcune di esse, successivamente, sviluppano la malattia di interesse. Alcuni soggetti muoiono in seguito a tale malattia, altri per cause diverse. Alla fine del periodo di studio alcuni membri della coorte sono morti per la malattia indagata, alcuni sono ancora vivi, e dal momento che altri sono da considerare come “persi al follow-up”, il contatto con loro è andato perduto.

**Figura 3.2** Follow-up di un'ipotetica popolazione in studio



Fonte: Beaglehole et al. 1993

E' importante sottolineare che i partecipanti allo studio contribuiscono all'informazione solo durante il periodo in cui essi possono sviluppare la malattia e essere perciò studiati. Gli individui che cessano di contribuire all'informazione comprendono coloro che muoiono, coloro che emigrano o vengono persi di vista durante lo studio. Tuttavia, sebbene una persona possa morire, le cause della morte e il momento in cui è avvenuta costituiranno un'informazione importante. In altre parole, le persone esposte possono morire in età più giovane di quelle che non sono esposte. Perciò è importante considerare per quanto tempo ogni persona contribuisce allo studio; usando il metodo **tempo-persona**.

La Figura 3.2 illustra come l'unità “tempo-persona” venga misurata in una popolazione ipotetica. Nella figura, gli individui 1, 2 e 4 sono osservati durante l'intero follow-up, pertanto ciascuno ha contribuito come persona a rischio per 7 anni di osservazione. Gli individui 3 e 6 sono stati osservati per 2 anni prima di contrarre la malattia e quindi contribuendo ciascuno per 2 anni, dal momento che, una volta contratta la malattia, non è più possibile essere conteggiati per gli anni di rischio. L'individuo 5 contribuisce per 3 anni di osservazione prima di uscire dal follow-up perché emigrato. Il periodo totale a rischio di sviluppare “la malattia” in questa piccola popolazione è 33 anni-persona. Poiché gli individui ammalati restano a rischio di morte (es. gli individui 3, 6 e 7) il periodo a rischio di mortalità nella stessa piccola popolazione è di 43 anni-persona (rispettivamente 7, 7, 5, 7, 3, 7, 7).

Formula del **Tasso di incidenza (I)**:

$$I = \frac{\text{casi}}{\text{tempo-persona}} = \frac{M_I}{Y_T}$$



Le formule presentate in questo capitolo sono generalmente coerenti con lo schema della Tabella 3.1. Quindi, per semplificare l'esposizione, verrà presentata la sola formula per la popolazione totale (es.  $M_1/Y_1$ ). La struttura delle formule per popolazione esposta e non esposta è equivalente a quella mostrata per la popolazione totale. Per esempio, il tasso di incidenza in una popolazione esposta è  $I_1=a/Y_1$ ; il tasso di incidenza nella popolazione non esposta è  $I_0=b/Y_0$ ;

**Tabella 3.1 Schema di dati per il calcolo del tasso di incidenza**

	Esposti	Non esposti	Totale
Casi	a	b	$M_1$
Non casi (controlli)	c	d	$M_0$
Popolazione in studio (persone)	$N_1$	$N_0$	T
Periodo di studio (anni-persona)	$Y_1$	$Y_0$	$Y_T$
Tasso di incidenza	$I_1$	$I_0$	I
Proporzione di incidenza	$R_1$	$R_0$	R
Odds di incidenza	$O_1$	$O_0$	O

#### Box 3.1 Esempio di tasso di incidenza

Pearce *et al.* (1990) intrapresero uno studio sul personale della Marina della Nuova Zelanda che aveva partecipato ai test nucleari britannici condotti nel Pacifico. Confrontarono le 528 persone che presero parte ai test durante gli anni 1957-58 con 1.504 uomini che, pur prestando servizio nella Marina nello stesso periodo, si trovavano su altre navi non coinvolte nei test e quindi non erano stati esposti. Seguirono entrambi i gruppi per il periodo 1957-1987. I 528 esposti - di cui 70 morirono - contribuirono per un totale di 13.923 anni-persona di follow-up. Il tasso di mortalità fu pertanto  $70/13.923 = 50,3$  morti per 10.000 anni-persona. I 1.504 non esposti - di cui 179 morirono - contribuirono per un totale di 38.937 anni-persona. Il tasso fu pertanto  $179/38.937 = 46,0$  morti per 10.000 anni-persona.

La **proporzione di incidenza** o **rischio** (conosciuta anche come incidenza cumulativa) è un'altra importante misura di frequenza di malattia. E' la proporzione di soggetti in studio che sviluppa l'evento di interesse. Dal momento che è una proporzione, è "senza dimensione". Il periodo però deve essere specificato. La proporzione di incidenza è concettualmente analoga alla probabilità (o rischio) che si sviluppi un determinato evento in un individuo appartenente alla popolazione studiata. Quando la malattia è rara durante il periodo di follow-up (es. con una proporzione di incidenza inferiore al 10%) allora la proporzione di incidenza è approssimativamente uguale al prodotto del tasso di incidenza per il periodo di osservazione, presumendo che non ci siano perdite al follow-up.

Formula della **Proporzione di incidenza (R)**:

$$R = \frac{\text{casi}}{\text{persone}} = \frac{M_1}{T}$$

### Box 3.2 La proporzione di incidenza

Nello studio della Nuova Zelanda di cui al Box 3.1 si sono riscontrate 70 morti fra i 528 partecipanti durante il periodo 1957-1987. La proporzione di incidenza era pertanto  $70/528 = 0,133$  (13,3%). Fra i 1.504 non esposti si sono riscontrate 179 morti. La proporzione era perciò 0,119 (11,9%). (Nell'effettuare questi calcoli e per semplificare è stato ignorato che alcune persone sono state "perse" durante lo studio).

L'**odds di incidenza** è una terza misura di ricorrenza di malattia (Greenland, 1987a). E' il rapporto tra il numero delle persone che sperimentano l'evento ( $M_1$ ) e il numero dei soggetti che non lo sperimentano ( $M_0$ ). Questa misura è raramente usata negli studi di coorte, poiché il tasso di incidenza e la proporzione sono di maggior interesse, ma viene usata per calcolare l'odds ratio negli studi caso-controllo.

Formula dell'**Odds di incidenza (O)**:

$$O = \frac{\text{casi}}{\text{non-casi}} = \frac{M_1}{M_0}$$

Queste misure di occorrenza implicano tutte lo stesso numeratore: il numero di casi incidenti di malattia ( $M_1$ ). Differiscono per denominatore: anni-persona a rischio ( $Y_t$ ), persone a rischio ( $T$ ) o coloro che non sviluppano l'evento di interesse ( $M_0$ ).

### Misure di prevalenza

La prevalenza di un evento in una particolare popolazione è basata sul numero di casi esistenti in uno specifico momento. La **proporzione di prevalenza** in una popolazione è il numero di casi esistenti in un dato momento diviso per la dimensione della popolazione stessa. Come la proporzione di incidenza o rischio è "senza dimensione", ma va precisato il momento a cui si riferisce la rilevazione.

Formula della **proporzione di prevalenza (P)**:

$$P = \frac{\text{casi esistenti}}{\text{persone}} = \frac{M_1}{T}$$

La prevalenza è una misura utile del peso di una malattia in una popolazione, poiché indica la dimensione della popolazione affetta. La prevalenza è anche una misura appropriata per condizioni croniche come l'asma e il diabete, in cui l'incidenza annuale di nuovi casi è molto piccola se paragonata al numero di casi esistenti o prevalenti. La proporzione di prevalenza può essere anche usata per stimare il tasso di incidenza in una popolazione, se è disponibile l'informazione circa la durata della malattia. Se assumiamo che la popolazione in studio sia stabile (se cioè i tassi di incidenza, la durata della malattia, l'esposizione e la prevalenza sono stabili nella popolazione) e che esposizione e malattia non siano collegati ai tassi di immigrazione ed emigrazione, possiamo dimostrare che gli odds di prevalenza sono uguali al tasso di incidenza ( $I$ ) moltiplicato per la durata media della malattia, cioè  $P/(1-P) = I \times \bar{D}$  (Rothman & Greenland, 1998). L'**odds di prevalenza** è il numero di casi diviso per il numero dei non-casi nella popolazione in uno specifico momento. Poiché la prevalenza è una proporzione che rappresenta il numero di casi diviso per la popolazione totale, gli odds di prevalenza sono uguali alla prevalenza diviso uno meno la prevalenza.

Quando la proporzione di individui malati in una popolazione è piccola, la prevalenza è approssimativamente uguale all'incidenza moltiplicata per la durata media della malattia:  $P = I \times \bar{D}$ . Questo perché se la prevalenza è piccola il denominatore ( $1-P$ ) si avvicina a uno.

### 3.3 Confronti e associazioni

Uno studio epidemiologico, generalmente, cerca di stimare l'effetto dell'esposizione di interesse paragonando la frequenza di malattia in un gruppo esposto a quella in uno non esposto. Il risultato del confronto in termini quantitativi stima il rischio relativo e la differenza di rischio.

#### Rischio relativo come misura d'effetto

Alle tre principali misure di frequenza sopra descritte corrispondono tre misure d'effetto. La misura di maggior interesse è spesso il rapporto dei tassi, che è il rapporto tra tasso di incidenza in un gruppo esposto ( $a/Y_1$ ) e quello in un gruppo non esposto ( $b/Y_0$ ). Se non esiste associazione fra esposizione ed evento, e i due tassi sono pertanto identici, il rapporto tra essi è uguale a 1,0.

Formula del **rapporto dei tassi (RR)**:

$$RR = \frac{I_1}{I_0} = \frac{a/Y_1}{b/Y_0}$$

Il rapporto dei rischi (anche chiamato rapporto delle incidenze cumulative) è un'altra misura d'effetto comunemente usata. E' il rapporto tra la proporzione di incidenza nel gruppo esposto ( $a/N_1$ ) e quella nei non esposti ( $b/N_0$ ). Se non esiste alcuna associazione fra esposizione ed evento, il rapporto dei rischi è uguale a 1,0, dal momento che i due rischi sono identici.

Formula del **rapporto dei rischi (RR)**:

$$RR = \frac{R_1}{R_0} = \frac{a/N_1}{b/N_0}$$

L'**odds ratio di incidenza** è un terzo tipo di misura d'effetto. E' il rapporto tra l'odds di incidenza nel gruppo esposto ( $a/c$ ) e quello dei non esposti ( $b/d$ ). Se l'evento è raro nel periodo di studio, l'odds ratio di incidenza è approssimativamente uguale al rapporto dei tassi di incidenza. Se non esiste associazione fra esposizione ed evento, l'odds ratio è uguale a 1,0.

Formula dell'**odds ratio (OR)**:

$$OR = \frac{O_1}{O_0} = \frac{a/c}{b/d} = \frac{ad}{bc}$$

#### Box 3.3 Misure d'effetto come rischio relativo

Nello studio in Nuova Zelanda descritto al Box 3.1 il tasso di mortalità era 50,3 per 10.000 anni-persona fra i partecipanti al test e 46,0 per 10.000 anni-persona fra i controlli; il rapporto dei tassi era pertanto  $50,3/46,0 = 1,09$ . La proporzione di incidenza dei decessi era 0,133 fra i partecipanti (esposti) al test e 0,119 fra i controlli (non-esposti); il rapporto dei rischi era pertanto  $0,133/0,119 = 1,11$ . L'odds di mortalità era 0,153 (70/458) per i partecipanti al test e 0,135 (179/1.325) per i controlli. L'odds ratio era pertanto  $0,153/0,135 = 1,13$ .

Ci si riferisce alle tre misure d'effetto (le quali implicano tutte dei rapporti) usando il termine generico **rischio relativo**. Per ciascuna, il rapporto di una misura di occorrenza nel gruppo esposto è paragonato con quello del gruppo non esposto. Le varie misure si basano sugli stessi numeratori (casi incidenti), ma i loro denominatori differiscono dal momento che sono basati su anni-persona, persona o sopravvissuti (persone che non sviluppano la malattia durante il periodo di follow-up). Se la frequenza è rara durante il periodo del follow-up (per esempio inferiore al 10%), le misure sono approssimativamente uguali, come nello studio della Nuova Zelanda in cui il rapporto dei tassi era 1,09, il rapporto dei rischi era 1,11 e l'odds ratio 1,13.

### Misure di prevalenza di effetto

Il **rapporto di prevalenza** è il rapporto tra la proporzione di prevalenza negli esposti e quella nei non esposti. E' una misura d'effetto indicata in circostanze quali l'insorgenza di una tossinfezione alimentare, in cui il periodo di esposizione è breve. In tale evenienza, i casi prevalenti rappresentano l'intero numero di persone affette. Ciò significa che il rapporto di prevalenza è uguale al rapporto dei rischi per l'intero periodo della malattia.

Come detto in precedenza, se si verificano certi presupposti, l'odds di prevalenza equivale alla incidenza moltiplicata per la durata. In questa situazione l'**odds ratio di prevalenza (POR)** equivale al rapporto dei tassi di incidenza per il rapporto delle durate media nei due gruppi.

$$POR = \frac{P_1 / (1 - P_1)}{P_0 / (1 - P_0)} = \frac{I_1 \times \overline{D_1}}{I_0 \times \overline{D_0}} = \frac{I_1}{I_0} \times \frac{\overline{D_1}}{\overline{D_0}}$$

L'aumento dell'odds ratio di prevalenza può perciò riflettere l'influenza di fattori che aumentano la durata della malattia, così come di quelli che ne aumentano l'incidenza. Tuttavia se la durata media è la stessa sia nel gruppo esposto che in quello non esposto (es. quando l'esposizione non ha effetto sulla durata della malattia), l'odds ratio di prevalenza stima il rapporto dei tassi di incidenza. L'odds ratio di prevalenza è spesso usato come misura di effetto in studi di prevalenza e può essere preferibile al rapporto di prevalenza come stima del rapporto dei tassi nella valutazione del rischio relativo di una malattia cronica.

La Tabella 3.2 presenta i risultati di uno studio di prevalenza dei sintomi respiratori ed esposizione alle emissioni degli autoveicoli (Nitta *et al.*, 1993). La popolazione esaminata consisteva di 1.517 individui di cui 570 vivevano entro 20 metri dalla strada; di questi 56 (9,8%) hanno riportato sibili cronici. Gli altri 578 partecipanti vivevano da 20 a 150 metri dalla strada e 24 (4,2%) hanno riportato sibili cronici. Quindi l'odds era 56/514 per coloro che vivevano vicini alla strada e 24/554 per coloro che abitavano più lontano. L'odds ratio era 2,5, il che significa che chi viveva vicino alla strada aveva una probabilità due volte e mezzo maggiore di presentare i sintomi respiratori rispetto a quelli che ne vivevano lontano. Lo stesso risultato si può ottenere paragonando gli odds di coloro che abitavano vicino alla strada, e che soffrivano di sibili cronici, con gli odds di chi non ne soffriva. In altre parole, il rapporto degli odds ratio di incidenza fra esposti e non esposti è matematicamente uguale al rapporto degli odds di esposizione tra casi e non-casi (controlli), oppure ad/bc.

**Tabella 3.2 Analisi di uno studio trasversale su sintomi respiratori ed esposizione a emissioni veicolari usando l'odds ratio di prevalenza.**

Distanza dalla strada	Sibili cronici	Assenza di sibili cronici	Odds ratio
< 20 m	56	514	2,5
20-150 m	24	554	

Fonte: Nitta *et al.* (1993)

### Differenza dei tassi e differenza dei rischi come misure d'effetto

Per calcolare differenti misure d'effetto si può usare un approccio analogo, utilizzando però la **differenza dei tassi** e la **differenza dei rischi**, piuttosto che i rispettivi rapporti. Negli studi epidemiologici i rapporti sono generalmente di maggiore interesse rispetto alle differenze, dal momento che i primi sono più strettamente collegati alla forza dell'effetto, (questo criterio è importante quando si stabilisce la relazione fra un'esposizione e un risultato; vedi paragrafo 3.6). I rapporti hanno migliori proprietà statistiche rispetto alle differenze, e sono utili per stabilire il possibile ruolo di varie fonti di bias (Pearce, 1989). Tuttavia le misure di differenza possono a-

vere valore in certe circostanze, particolarmente nella valutazione dell'impatto sulla salute pubblica di un'esposizione. Per esempio, possono essere usate misure di differenza per stimare la quota di malattia che può essere potenzialmente eliminata come risultato di un intervento di riduzione dell'esposizione ambientale. Se non esiste associazione fra l'esposizione e il risultato, la differenza dei tassi è uguale a 0,0

Formula della **differenza dei tassi (RD)**:

$$RD = I_1 - I_0 = \frac{a}{Y_1} - \frac{b}{Y_0}$$

Analogamente, la differenza dei rischi sarebbe uguale a  $R_1 - R_0 = a/N_1 - b/N_0$ .

#### Box 3.4 Differenza dei tassi e dei rischi

Nello studio della Nuova Zelanda descritto al Box 3.1, il tasso di mortalità era 50,3 per 10.000 anni-persona fra i partecipanti (esposti) e 46,0 per 10.000 anni-persona fra i controlli (non esposti); la differenza dei tassi era pertanto  $50,3 - 46,0 = 4,3$  per 10.000 anni-persona. La proporzione d'incidenza della mortalità era 0,133 nei partecipanti al test e 0,119 nei controlli; la differenza dei rischi era pertanto  $0,133 - 0,119 = 0,014$ .

#### Rischio attribuibile

L'effetto di un'esposizione su un evento può essere anche espresso calcolando la proporzione di incidenza della malattia fra la popolazione esposta che può essere attribuita all'esposizione. Conosciuta come **rischio attribuibile**, questa misura d'effetto è basata sull'assunto che la differenza dei tassi ( $I_1 - I_0$ ) rappresenta l'incidenza della malattia nella popolazione esposta dovuta all'esposizione. Conseguentemente, la proporzione dell'incidenza osservata fra gli esposti dovuta all'esposizione è la differenza dei tassi diviso l'incidenza osservata. Inoltre dividendo ogni tasso d'incidenza nella formula per  $I_0$  il rischio attribuibile può essere calcolato usando solo la misura di rischio relativo.

Formula del **rischio attribuibile (AR)**:

$$AR = \frac{I_1 - I_0}{I_1} = \frac{RR - 1}{RR}$$

E' anche possibile stimare quale proporzione di un evento in una popolazione totale è attribuibile ad una esposizione - conosciuta come **rischio attribuibile di popolazione** - se è conosciuta la proporzione della popolazione totale esposta. Questa misura è stimabile perché il rischio attribuibile dovuto all'esposizione fra "non esposti" è per definizione zero, (dal momento che questo gruppo non è esposto). Il rischio attribuibile di popolazione è pertanto rischio attribuibile fra la popolazione esposta moltiplicato per la proporzione della popolazione totale anch'essa esposta.

Formula del **rischio attribuibile di popolazione (PAR)**:

$$PAR = P_e \times AR = P_e \times \frac{(I_1 - I_0)}{I_1} = P_e \times \frac{(RR - 1)}{RR}$$

Il rischio attribuibile di popolazione può essere un'utile misura d'effetto nell'epidemiologia ambientale poiché fornisce un'indicazione dell'impatto totale di un'esposizione sulla popolazione. Questa misura è in grado di rivelare che le esposizioni associate a un piccolo rischio relativo possono avere un impatto notevole sulla popolazione, se una buona proporzione di essa è esposta, come nel caso dell'inquinamento dell'aria o dell'acqua.

### Box 3.5 Rischio attribuibile e rischio attribuibile di popolazione

Nello studio descritto al Box 3.1 la differenza dei tassi era  $50,3 - 46,0 = 4,3$  per 10 000 anni-persona e il tasso di mortalità era 50,3 per 10 000 anni-persona fra i partecipanti coinvolti in test nucleari (esposti). Il rischio attribuibile era pertanto  $4,3/50,3 = 0,086$ ; in altre parole l'8,6% delle morti fra i coinvolti potrebbe essere attribuito alla loro partecipazione ai test nucleari. Se i registri indicano che il 5% del personale della Marina aveva partecipato ai test, il rischio attribuibile di popolazione sarebbe  $0,086 \times 0,05 = 0,0043$ , il che significa che lo 0,43% delle morti fra tutto il personale della Marina potrebbe essere attribuito a parte del personale che aveva partecipato ai test.

### Modificazione di effetto

La **modificazione di effetto** si riscontra quando l'effetto dell'esposizione al fattore di studio è influenzato dal livello di un altro fattore presente nella popolazione studiata (Rothman & Greenland, 1998). Un esempio di modificazione di effetto è la differenza, dovuta al sesso, nel rischio del cancro al seno. Uno studio di fattori di rischio ambientale per il cancro al seno dovrebbe essere ristretto alle femmine o, almeno, mantenere i maschi come gruppo di studio distinto. Ma la possibilità di una modificazione di effetto non è sempre così ovvia. Recentemente si è sviluppato un certo interesse circa la possibilità che il polimorfismo genetico (variazione genetica della popolazione) influenzi la capacità di metabolizzare una tossina assorbita e pertanto la suscettibilità alle esposizioni ambientali. Questo tipo di variazione genetica è rilevante negli studi di epidemiologia, poiché ne può risultare una modificazione di effetto per cui allo stesso livello di esposizione ad una sostanza tossica potrebbero risultare livelli differenti d'effetto tra sottogruppi geneticamente diversi della popolazione in studio. La modificazione di effetto dovuta alla variazione nella suscettibilità può avvenire a causa dell'ambiente, ma anche di fattori genetici. Per esempio, l'assorbimento gastrointestinale di piombo è più alto nei bambini con diete carenti di calcio o ferro. Pertanto il rischio di avvelenamento da piombo sarebbe maggiore fra questi bambini rispetto a quelli con identico livello di esposizione, ma con alimentazione migliore.

La modificazione di effetto può anche risultare da un'interazione biologica fra esposizioni ambientali multiple, in cui l'effetto combinato differisce dall'effetto totale delle esposizioni separate. Per esempio, l'incidenza del cancro al polmone in persone esposte sia all'amianto che al fumo di sigaretta è molto più alta che non la somma dell'incidenza del cancro al polmone in individui esposti o all'amianto o al fumo di sigaretta, ma non ad entrambi. Il rischio relativo di cancro al polmone in seguito all'esposizione sia ad amianto che a fumo di sigaretta è approssimativamente uguale alla moltiplicazione dei rischi relativi attribuibili alle esposizioni separate. La Tabella 3.3 mostra un esempio della modificazione di effetto (Hammond *et al.*, 1979). La differenza dei tassi per l'esposizione ad amianto è 470 per 100.000 anni-persona fra fumatori e 47 per 100.000 anni-persona fra i non-fumatori. Evidentemente, il fumo modifica l'effetto dell'esposizione ad amianto quando stimato come differenza dei tassi. Tuttavia, se viene usato il rapporto dei tassi, il rischio relativo da esposizione ad amianto è di circa 5 volte superiore sia per i fumatori che per i non fumatori. In questo caso, il rischio delle due esposizioni è approssimativamente moltiplicativo e non c'è modificazione di effetto nei confronti del rapporto dei tassi, ma è presente per quanto concerne la differenza dei tassi.

**Tabella 3.3 Mortalità per cancro al polmone per 100.000 anni-persona a rischio in una coorte di lavoratori di amianto a confronto con altri lavoratori**

	Non fumatori		Fumatori	
	Esposizione all'amianto		Esposizione all'amianto	
	No	Sì	No	Sì
Tasso di mortalità	11	58	120	590
Rapporto dei tassi	1	5,2	10,9	53,6
Differenza dei tassi	-	47	109	579

Fonte: Hammond *et al.* (1979)

Il fatto che l'effetto congiunto sia moltiplicativo e non semplicemente additivo ha due implicazioni importanti. Nell'ambito della salute pubblica indica che (essendo tutto il resto uguale) il prevenire l'esposizione ad amianto è più importante per i fumatori rispetto ai non fumatori; l'intervento impedirà approssimativamente 43 casi di cancro al polmone nei fumatori (53,6 - 10,9) per ogni 4 casi di cancro al polmone nei non fumatori (5,2 - 1,0). (Idealmente, è ovvio, tutte le esposizioni ad amianto andrebbero eliminate). In termini eziologici, la natura non-additiva dell'interazione suggerisce che l'amianto e i fumatori sono coinvolti in almeno un processo causale comune (Pearce, 1989). Pertanto può essere importante stabilire la modificazione di effetto quando si studiano malattie, come il cancro, la cui evoluzione avviene attraverso diversi stadi prima della manifestazione clinica della malattia.

### 3.4 Validità (errore sistematico, bias e confondimento)

Il fine di ogni studio di epidemiologia ambientale è quello di ottenere una stima la più accurata possibile dell'associazione quantitativa fra fattore ambientale ed occorrenza della malattia. La strategia di base per valorizzare la qualità di uno studio epidemiologico consiste nel disegnarlo in modo da minimizzare l'errore potenziale. Inoltre, sia i dati che lo studio andrebbero monitorati durante lo svolgimento di quest'ultimo, perseguendo la qualità e agevolando la valutazione e la correzione dell'errore nell'analisi dei dati. Tuttavia qualche errore sarà inevitabile.

L'errore è generalmente classificato come casuale o sistematico (Rothman & Greenland, 1998; Beaglehole *et al.*, 1993). L'**errore sistematico** avvicina o allontana in modo sistematico la stima dell'effetto osservato rispetto al valore reale, mentre l'**errore casuale** è la divergenza, dovuta al caso, del valore osservato su un campione rispetto al valore reale della popolazione. L'**errore casuale** è dovuto alla variabilità dei dati che si ha lavorando con piccoli numeri, ma può essere ridotto facendo uno studio più allargato. L'errore sistematico è un aspetto intrinseco al disegno dello studio e alla popolazione indagata e non può essere ridotto semplicemente conducendo uno studio allargato (vedi paragrafo 3.5). La **validità** o accuratezza è il limite del controllo sugli errori sistematici. Il termine **bias** è generalmente usato per fare riferimento alla presenza di errori sistematici. Esistono tipi differenti di bias, che vengono raggruppati in tre forme generali: confondimento, bias di selezione e bias di informazione (Rothman & Greenland, 1998; Beaglehole *et al.*, 1993) (secondo altri orientamenti il confondimento viene considerato non una forma di bias bensì una forma separata di errore, *n.d.t.*).

#### Confondimento

Il confondimento si verifica se i gruppi esposti e non esposti non sono paragonabili a causa della differenza nel background del rischio (Greenland, 1985; Greenland, 1986). Le differenze sono solitamente dovute a caratteristiche individuali come l'età, il sesso, il background socio-economico o l'esposizione ad altri fattori di rischio. Se non ci sono altri bias, è necessario il realizzarsi delle tre seguenti condizioni, affinché un fattore possa essere definito un confondente:

- deve essere un fattore di rischio (o protettivo) in assenza dell'esposizione studiata (non necessariamente deve essere una causa vera e propria; potrebbe essere anche solo un marker di una causa);
- deve essere associato all'esposizione nella popolazione in studio;
- non deve essere influenzato dall'esposizione o dalla malattia. (In particolare non può essere un fattore intermedio nel percorso causale fra esposizione e malattia. Un fattore intermedio è un fattore causato dall'esposizione e che, a sua volta, causa la malattia stessa). (Rothman & Greenland, 1998).

L'errore sistematico, causato dal confondimento, può avvicinare o allontanare dal valore nullo rappresentato dall'assenza di associazione apparente fra esposizione e risultato, a seconda delle relazioni esistenti fra esposizione, confondente ed effetto. Per esempio, l'efficacia dei trattamenti medici della diarrea acuta può essere valutata paragonando bambini ammalati che hanno ricevuto cure ospedaliere a bambini che hanno ricevuto cure a domicilio. Risultati migliori possono

essere osservati fra i bambini che hanno ricevuto un trattamento in ambiente ospedaliero. Tuttavia, è possibile che questi bambini vivano in una città e siano meglio nutriti dei bambini che hanno ricevuto cure tradizionali a domicilio. L'apparente migliore efficacia delle cure ospedaliere potrebbe pertanto essere spuria. L'effetto apparente sarebbe maggiore dell'effetto reale a causa del confondimento legato allo status nutrizionale.

In alternativa, le condizioni iniziali dei bambini che hanno ricevuto cure ospedaliere possono essere state considerate più gravi, al punto di richiederne il ricovero. Nel caso specifico, l'effetto apparente delle cure ospedaliere potrebbe essere inferiore all'effetto reale a causa del confondimento dovuto alle differenze nella severità della malattia fra gruppi in cura. Possono anche esserci fattori di confondimento multipli e possono agire in direzioni opposte rendendo molto difficile la comprensione del fenomeno.

Negli studi epidemiologici, il confondimento può essere controllato nel disegno dello studio, o nell'analisi o in ambedue. Il controllo del confondimento nella fase di disegno può essere espletato principalmente da randomizzazione, restrizione o appaiamento (bilanciamento, matching) (Rothman & Greenland, 1998). La randomizzazione, in cui l'esposizione o il trattamento sono assegnati a caso ai soggetti dai ricercatori, non è possibile negli studi epidemiologici osservazionali, poiché il ricercatore non assegna l'esposizione. La restrizione consente di restringere la gamma dei valori dei potenziali confondenti, per esempio circoscrivendo lo studio a femmine bianche in un particolare gruppo d'età. Questo approccio, tuttavia, può limitare il numero di potenziali soggetti di uno studio e la quantità di informazioni fornite dallo stesso. Una terza strategia è quella di appaiare i soggetti in studio sulla base di potenziali confondenti (es. appaiamento per età, sesso ed etnia). L'appaiamento in uno studio di caso-controllo si realizza misurando il rischio nei casi e selezionando in seguito i controlli dalla popolazione alla quale si applica. L'appaiamento può rappresentare un mezzo efficace di controllo del confondimento, ma può essere anche costoso e complicare l'analisi e l'interpretazione dei risultati. I metodi per controllare il confondimento in fase di disegno dello studio sono ulteriormente discussi nel Capitolo 6.

L'approccio più comune è il controllo del confondimento durante l'analisi dei dati. Questo implica stratificare i dati in sottogruppi secondo i livelli del/dei confondente/i e calcolare una misura totale d'effetto che riassume l'informazione contenuta nei vari strati. In alternativa, si possono utilizzare i metodi analitici multivariati per modellare l'effetto dell'esposizione in fase di aggiustamento dei fattori di confondimento. In generale, questo controllo richiede un uso attento di conoscenze "a priori" (in fase di disegno dello studio), unito a valutazioni del variare della stima d'effetto quando il fattore è controllato nell'analisi. Tali metodi sono descritti nel Capitolo 7.

### **Bias di selezione**

Mentre il confondimento è generalmente dovuto a bias intrinseci alla base dello studio, **il bias di selezione** deriva dalle procedure usate per selezionare soggetti dalla base dello studio all'interno della popolazione in studio. Tale bias di selezione non si rivela di solito un problema in uno studio di coorte che implica un completo follow-up, dal momento che tutte le informazioni disponibili date dalla base dello studio possono essere utilizzate. Tuttavia, il bias può verificarsi in uno studio di coorte se i soggetti si perdono al follow-up a causa di fattori associati sia all'esposizione sia all'esito, o se l'esposizione è un modificatore di effetto nell'associazione fra partecipazione allo studio ed esiti in termini di salute (Greenland, 1987). Ad esempio, il bias può nascere in uno studio di coorte su inquinamento dell'aria e cancro ai polmoni, se gli individui nelle zone inquinate emigrano gradatamente dalla zona studiata quando sviluppano sintomi respiratori e si sottraggono al follow-up. E' importante notare che il bias nella stima del risultato avverrebbe solo nel caso in cui la perdita al follow-up evidenziasse differenti risultati fra esposti e non-esposti; ad esempio, è più probabile che siano gli individui con sintomi respiratori e che vivono in una zona inquinata ad emigrare, piuttosto che i soggetti non esposti che presentano sintomi della stessa natura.

Il bias di selezione desta maggiori preoccupazioni negli studi caso-controllo dato che in tali stu-



di interviene il campionamento. In particolare, vi può essere bias di selezione in uno studio caso - controllo, se i controlli sono scelti in modo non rappresentativo: ad esempio, nel caso in cui ci fosse una maggiore propensione a selezionare come controlli gli individui esposti rispetto ai non-esposti, come può avvenire se i controlli per i casi di cancro al polmone sono pazienti ricoverati con altre malattie (fumare tabacco aumenta il rischio di cancro ai polmoni e di molte altre affezioni).

Se è disponibile una corretta informazione, il bias di selezione può essere verificato e controllato tramite strumenti identici a quelli usati per verificare e controllare il confondimento. In particolare, il bias di selezione può, talvolta, essere controllato durante l'analisi tramite l'identificazione di fattori correlati alla selezione e al loro controllo come confondenti. Ad esempio, è più probabile che le persone con un elevato grado di istruzione vengano selezionate o partecipino allo studio e siano soggette ad un diverso rischio di contrarre malattie rispetto ai soggetti meno scolarizzati. Se il livello di istruzione può essere messo in relazione negativamente o positivamente con l'esposizione di interesse, questo bias può essere parzialmente controllato con la raccolta di informazioni relative alla classe sociale e il suo controllo, inteso come elemento di confondimento nell'analisi. Come nel confondimento, la valutazione dell'impatto e della direzione del bias è possibile anche se il bias di selezione non può essere valutato in maniera diretta. Gli approcci analitici per il controllo del confondimento e bias di selezione sono discussi nel Capitolo 7.

### **Bias di informazione**

**Il bias di informazione** risulta da un'errata classificazione dei soggetti in studio relativamente alla malattia o all'esposizione. Esso è anche comunemente definito **bias di osservazione**, **bias di misurazione**, o **bias di errata classificazione**, dal momento che gli errori di informazione solitamente risultano durante la misurazione o la classificazione delle variabili dello studio. Tale bias di informazione si riferisce ai soggetti inclusi nel campione mentre il bias di selezione si riferisce alla selezione dei soggetti in studio derivanti dalla base dello studio.

Si conoscono due forme generali di bias di informazione, a seconda che l'errore di classificazione per esposizione sia indipendente dall'errore di classificazione per malattia, o viceversa (Rothman & Greenland, 1998). La distinzione è importante poiché le conseguenze dei bias portano a risultati diversi. **Il bias di informazione non-differenziale** (secondo differenti orientamenti questa categoria viene considerata non come un bias ma come una forma a sé stante di errore, *n.d.t.*) si verifica quando la probabilità di un'errata classificazione è la stessa per entrambi i gruppi sottoposti a comparazione (Checkoway *et al.*, 1989). In altre parole, la probabilità di un'errata classificazione della malattia sarebbe identica sia nel gruppo degli esposti che in quello dei non-esposti, o l'errata classificazione dell'esposizione sarebbe identica all'interno dei gruppi dei malati e dei non-malati (sani). Naturalmente, in molti casi, si presenta una certa percentuale di classificazione errata nella misurazione sia dell'esposizione che della malattia su una popolazione campione, tale che la probabilità di classificazione errata debba essere considerata per tutte le variabili misurate. L'errata classificazione non-differenziale compromette generalmente la stima del risultato relativamente al valore nullo dell'effetto non manifestato. In tal modo, il bias di informazione non-differenziale tende a produrre falsi-negativi ed è di particolare interesse negli studi che non riscontrano alcun nesso fra esposizione e malattia. Un esempio di probabile bias di informazione non-differenziale nell'epidemiologia ambientale è l'utilizzo della residenza di una persona come misura approssimata surrogata dell'esposizione. Ad esempio, la distanza dell'abitazione di una persona dall'autostrada o dalla zona industriale potrebbe essere utilizzata come criterio di esposizione potenziale al piombo in uno studio caso-controllo sull'incidenza dei disturbi neurologici. Vi sarebbe bias di informazione - uguale per casi e controlli - se la distanza surrogata misurata non riflettesse in modo accurato la reale esposizione ambientale al piombo.

**Il bias di informazione differenziale** si presenta quando la probabilità di errata classificazione dell'esposizione differisce tra i malati ed i non-malati, o la probabilità di un'errata classificazione della malattia differisce tra le persone esposte e non-esposte. Questo tipo di bias potrebbe av-

vicinare/allontanare la stima del risultato osservato al/dal valore nullo. Ad esempio, in uno studio caso-controllo occorre tenere presente che l'esposizione al fumo passivo in persone con disturbi polmonari potrebbe differire rispetto all'esposizione allo stesso fattore da parte di persone sane. Il bias di informazione differenziale potrebbe perciò verificarsi ed eventualmente compromettere il rapporto delle probabilità in entrambe le direzioni. Allo stesso modo, le persone che vivono nei pressi di una fabbrica possono riferire sintomi respiratori più frequentemente rispetto alle persone che vivono ad una certa distanza dalla stessa, semplicemente perché sono più preoccupate dal possibile legame fra i loro sintomi e le emissioni della fabbrica.

Sono state riconosciute diverse fonti comuni di bias di informazione. Alcune di queste, come il bias di richiamo ed il bias dell'intervistatore, sono di particolare interesse per il fatto che il bias può variare tra i vari gruppi campione al punto che il suo effetto netto non sia prevedibile (Drews & Greenland, 1990).

**Il bias di richiamo** riguarda le differenze nel riportare le informazioni da parte dei partecipanti allo studio. Ad esempio, è più probabile che le persone che hanno sviluppato un cancro ai polmoni riportino un'esposizione all'amianto o al radon rispetto ai soggetti dello studio che non hanno sviluppato un cancro. Diverse ricerche hanno evidenziato che le persone che vivono nei pressi di discariche di rifiuti pericolosi tendono a denunciare un'elevata prevalenza di un ampio *range* di sintomi; un comportamento che sembra coerente con l'aumento della denuncia di sintomi tra i residenti di una comunità preoccupati di una loro potenziale esposizione (si veda, ad esempio, Ozonoff *et al.*, 1987 e Baker *et al.*, 1988).

**Il bias da intervistatore** si riferisce al bias durante la raccolta o la registrazione di informazioni da parte del gruppo di lavoro. Ad esempio, una precedente conoscenza dello stato dei soggetti (malato/non-malato) può influenzare il modo in cui il gruppo di lavoro ottiene o registra informazioni. In tal modo, un intervistatore potrebbe investigare la storia ambientale ed occupazionale di un caso di cancro ai polmoni più attentamente rispetto a quella di un soggetto controllo che non abbia contratto il cancro. Questi bias si creano più frequentemente in ricerche su coorti storiche, su studi caso-controllo e trasversali (vedi Capitolo 6) piuttosto che in studi prospettici di coorte poiché il risultato finale dello stato di salute di un individuo può essere conosciuto prima che la storia dell'esposizione venga determinata.

**L'errore di misurazione** si riferisce ad errori fatti durante la misurazione delle variabili in studio. Molti ricercatori considerano tale termine sinonimo di bias di informazione, ma è importante distinguere tra la validità di una particolare misurazione di esposizione o malattia (errore di misurazione) e la validità di una stima d'effetto dello studio (bias di informazione). Gli errori di misurazione possono essere sistematici - ad esempio, uno spirometro che è sempre scorrettamente calibrato - o casuale - per esempio, per la variabilità da test a test. Gli errori sistematici riducono la validità della misurazione, mentre gli errori casuali ne riducono la precisione, ma, in entrambi i casi, tali errori avranno l'effetto di un bias di informazione e ridurranno la validità della stima del risultato principale. Il prestare meticolosa attenzione ai criteri di misurazione, ai metodi, agli strumenti di studio, alla preparazione del gruppo di lavoro e al perfezionamento del campione può aumentare sia la validità che la precisione. Oltre a ciò, si può ricorrere a misurazioni molteplici, utilizzando tecniche identiche o differenti, per quantificare la variabilità di misurazione. Ad esempio, in uno studio sull'asma infantile si potrebbero effettuare molti campioni di polvere di casa per analizzare le concentrazioni di allergeni, come gli acari. I risultati dei campioni multipli potrebbero essere utilizzati per stimare la variabilità nelle misurazioni.

Allo stesso modo, le misurazioni degli eventi sanitari, in particolar modo i processi biologici, devono tenere conto della variabilità sistematica degli esiti. **La variabilità intra-individuale** può presentarsi in determinate condizioni o funzioni fisiologiche che manifestano una variazione ciclica (diurna o stagionale) distinta. Questa variabilità deve essere presa in considerazione durante il rilievo di misurazioni che si riferiscono a particolari condizioni e funzioni. Ad esempio, la funzionalità respiratoria varia a seconda del modello di rilevazione diurno o giornaliero, cosicché le misurazioni effettuate su un individuo nella mattinata si diversificano da quelle ef-

fettuate sullo stesso individuo di sera. Il momento in cui le misurazioni vengono registrate può, dunque, rivelarsi cruciale. **La variabilità inter-individuale** è associata alla gamma degli effetti sulla salute osservata su una popolazione in seguito all'esposizione ad un agente; le persone "resistenti" e "suscettibili" saranno posizionate ai due estremi della distribuzione.

Le strategie per ridurre una misclassificazione dovrebbero, per prima cosa, focalizzarsi sul controllo della qualità delle misurazioni. In alternativa, sarebbe auspicabile ottenere misurazioni molteplici dei soggetti in studio per raggiungere la migliore stima media della misurazione reale. Tuttavia, la ripetizione delle misurazioni sull'esposizione può essere onerosa e rappresentare un carico particolarmente gravoso per i soggetti studiati. In linea di principio, la variazione intra ed inter-individuale può essere valutata tramite ripetute misurazioni su un sotto-campione rappresentativo della popolazione presa come modello. L'informazione ottenuta può quindi essere utilizzata per aggiustare l'analisi dei dati, al fine di ottenere stime d'effetto non distorte.

L'interpretazione dei risultati dell'indagine dipende dall'accuratezza delle misurazioni. Se vi è a disposizione un "gold standard" affidabile, sarà possibile una verifica diretta dell'accuratezza delle misurazioni. La standardizzazione inter-laboratorio, che comunemente è parte integrante della verifica di qualità e delle procedure di controllo della qualità di studi più ampi, è un altro approccio per monitorare l'accuratezza delle misurazioni.

#### **Box 3.6 Controllo dell'errore di misurazione**

L'errore di misurazione può essere minimizzato da:

- sviluppo di criteri espliciti ed oggettivi per la misurazione delle caratteristiche ambientali e dello stato di salute;
- raccolta di dati conforme ed accurata - ad esempio, tramite l'uso di una strumentazione standardizzata; questionari oggettivi a risposta chiusa; strumentazione valida;
- uso attento e coerente degli strumenti - ad esempio, facendo ricorso ad un addestramento standard e a manuali di istruzione il più oggettivi possibile;
- sviluppo ed applicazione di procedure relative al controllo e alla garanzia della qualità;
- utilizzo di molteplici fonti di dati;
- pulizia e codifica dei dati;
- analisi e aggiustamento, se necessario, per correggere il bias dovuto alla misurazione.

Se l'errore di misurazione non può essere esaminato direttamente, si può fare analizzando la ripetibilità della misurazione - sia intra-osservatore (cioè, stabilendo se lo stesso osservatore registra la medesima osservazione in occasioni separate) e inter-osservatore (stabilendo, cioè, se due o più osservatori registrano le stesse osservazioni sullo stesso soggetto). Vi possono essere discrepanze di osservazione se il parametro di interesse è per sua natura variabile (ad esempio, la pressione sanguigna). In caso contrario, la mancanza di ripetibilità implicherà mancanza di validità. Sfortunatamente, non sempre avviene il contrario: una misurazione ripetibile non è sempre valida.

#### **Principi di garanzia di qualità**

Nella fase di progettazione di uno studio, si deve aver cura di selezionare appropriati metodi di garanzia di qualità nella raccolta e nella gestione dei dati. Il protocollo di studio dovrebbe stabilire come saranno raccolti i dati, e quali metodi verranno utilizzati per monitorare e valutare la loro qualità. Occorrerebbe tenere, per l'intero corso della ricerca, una registrazione scritta di tutte le procedure e di tutti i cambiamenti occorsi nell'attuazione delle procedure di ricerca. Il gruppo di lavoro dovrebbe essere addestrato, e poi monitorato periodicamente durante lo svolgimento della ricerca al fine di valutare le tecniche di raccolta dei dati. Esistono diversi approcci correntemente usati per migliorare e monitorare la garanzia di qualità negli studi epidemiologici, inclusi quelli sopra evidenziati. Verranno discusse nel Capitolo 8 strategie pratiche per attua-

re un programma di garanzia di qualità.

#### **Verifica in cieco e in doppio cieco**

La possibilità di bias è spesso ridotta se la raccolta dei dati è portata avanti “in cieco”, ciò significa che il gruppo di lavoro o i soggetti della ricerca non sono a conoscenza dell’esposizione o della classificazione della malattia della persona in studio. Questo avviene indipendentemente dal fatto che l’informazione sia stata ottenuta tramite intervista, esame fisico o indagine clinica. Ad esempio, in uno studio su cataratta ed esposizione ai raggi solari, il gruppo di lavoro che è responsabile della valutazione delle cataratte dovrebbe essere tenuto all’oscuro del livello di esposizione ai raggi solari degli esaminati. In questo tipo di studi, è anche consigliabile nascondere i dettagli relativi all’ipotesi di ricerca all’intervistatore/esaminatore. Gli esaminati possono essere tenuti “all’oscuro” tramite una descrizione generica dello scopo della ricerca (ad esempio, fattori ambientali), piuttosto che rendere nota la specifica esposizione oggetto di studio. Naturalmente, la comunicazione dello scopo deve essere sufficientemente chiara per permettere una partecipazione “consapevole”. I punti relativi al consenso informato sono discussi nei Capitoli 2 e 8.

In uno studio “in doppio cieco” sia il gruppo di lavoro sia l’esaminato non sono al corrente della classificazione di esposizione della persona. Ad esempio, in uno studio sugli effetti del piombo sul comportamento dei bambini, uno psicologo che verifichi il bambino ed intervisti i suoi genitori non sarà al corrente del livello di piombo nel sangue del bambino. Al momento della verifica, le informazioni pertinenti il livello di piombo nel sangue del bambino potranno anche essere nascoste sia al genitore che al bambino (l’informazione sull’esposizione del bambino può essere certamente comunicata al genitore dopo che la verifica è stata realizzata).

#### **Variazione inter-osservatore**

Se due o più osservatori raccolgono l’informazione, si possono creare discrepanze relativamente al modo in cui l’informazione viene raccolta. Ad esempio, vi possono essere discrepanze dovute alla maniera in cui ciascun investigatore registra l’informazione, esegue visite mediche o interpreta dati clinici quali elettrocardiogrammi o radiografie. La condotta e l’interpretazione dell’osservatore possono anche variare di volta in volta e da luogo a luogo. La variazione inter-osservatore dovrebbe perciò essere monitorata con regolarità e sistematicità. Talvolta questo tipo di variazione può essere misurato solo chiedendo ad un osservatore di eseguire o interpretare un test standard in differenti momenti, o valutando il lavoro dell’osservatore a intervalli casuali. Ad esempio, in una ricerca multicentrica sui fattori ambientali chiamati in causa nell’asma infantile, era prevista una formazione centralizzata degli intervistatori al fine di assicurarne la coerenza. Successivamente, un supervisore aveva il compito di esaminare un’intervista ogni dieci per verificare che la stessa fosse stata condotta in modo coerente (Mitchell *et al.* 1997, Kattan *et al.*, 1997).

#### **Variazione intra-osservatore**

La variazione della misurazione può determinarsi anche in un singolo osservatore che ottenga misurazioni in tempi differenti e identiche condizioni. Ad esempio, un tecnico può registrare numeri lievemente differenti durante la misurazione della pressione sanguigna di un soggetto. Anche un intervistatore può porre una domanda con un differente tono di voce, cosa che può provocare una risposta diversa da parte del soggetto. La strategia principale di controllo della variazione intra-osservatore è preparare il personale di ricerca ad essere il più coerente possibile.

#### **Variazione inter e intra-strumentazione**

Tutti gli strumenti sono soggetti a una qualche variazione, come pure a limitazioni in termini di precisione. Le misurazioni realizzate con uno strumento possono variare nel tempo, o da luogo a luogo, a causa di cambiamenti nei fattori ambientali o di variazioni nelle condizioni in cui si opera (ad esempio, le fluttuazioni nella corrente elettrica). Ogni strumento dovrebbe essere calibrato prima dell’uso e in ogni contesto dato. I cambiamenti di pressione barometrica, temperatura, umidità, in particolare, possono inficiare il funzionamento degli strumenti di misurazione fisiologica. In aggiunta, le parti rimovibili degli strumenti e dei loro singoli componenti possono sviluppare difetti, o

i materiali di cui sono fatti possono deteriorarsi. Per la riduzione di tali problemi è efficace l'uso di strumenti standard. Ad esempio, uno studio della funzionalità respiratoria dovrebbe utilizzare un modello identico di spirometro per tutte le misurazioni. Sono richieste tarature e controlli frequenti per minimizzare le differenze all'interno dello strumento: se necessario, è possibile fare aggiustamenti, o determinare e applicare fattori di correzione. Il funzionamento dello strumento, così come la sua coerenza o linearità, devono essere determinati. Le differenze fra gli strumenti dovrebbero essere attentamente registrate; tali differenze possono facilmente comportare bias.

#### **Differenze inter e intra-laboratorio**

Le procedure di garanzia di qualità dovrebbero essere stabilite all'interno del laboratorio, e tra esso e un laboratorio di riferimento. Dovrebbero riguardare non solo la garanzia della qualità analitica, ma anche, se la ricerca richiede uso di materiale biologico, la garanzia di qualità durante il campionamento e la conservazione del materiale stesso. Prima e durante la ricerca dovrebbero essere eseguiti controlli sulla garanzia di qualità.

L'utilizzo di ogni strumento di laboratorio dipende in parte dall'esistenza o meno di valori di riferimento con i quali comparare i risultati. La maggior parte delle misurazioni del sangue, ad esempio, ha un'ampia gamma di valori "normali", e anche i valori classificati come anormali variano enormemente fra i vari laboratori. Si devono seguire, dunque, le procedure di garanzia di qualità analitica se si utilizzeranno misure ematiche di routine. In questo modo verranno rilevate le piccole, ma comunque significative, differenze fra le popolazioni che possono risultare differenze nell'esposizione agli agenti ambientali.

### **3.5 Precisione (errore casuale, attendibilità statistica)**

Come precedentemente affermato, l'errore casuale è una variazione nelle misurazioni dovuta unicamente al caso. L'errore casuale è dovuto alla variabilità biologica, variabilità della misurazione e variabilità del campionamento. Fonti di **variabilità biologica** includono la variazione diurna; i cambiamenti legati a fattori quali l'età, la dieta e l'esercizio, e a fattori ambientali come la stagione o la temperatura (Greenberg, 1993). La variabilità biologica può inoltre risultare da una predisposizione ripartita casualmente o da differenze genetiche. E' probabile che la **variabilità di misurazione** sia dovuta ad imprecisioni nella prestazione o calibratura di uno strumento di misurazione, o ad una registrazione superficiale o sbagliata dell'informazione da parte di uno strumento. Un ulteriore errore casuale può essere introdotto in conseguenza di errori compiuti durante la registrazione dei dati, il loro processo o il loro utilizzo. La variabilità biologica e di misurazione può condurre ad errori sistematici o casuali. Anche gli errori casuali di misurazione (mancanza di precisione) conducono ad errori sistematici o bias (dovuti ad una errata classificazione non-differenziale) qualora si utilizzino i risultati delle misurazioni per trarre le stime di risultato.

La **variabilità di campionamento** si verifica poiché coloro che partecipano allo studio rappresentano sempre un campione di una popolazione più ampia (Beaglehole *ed al.*, 1993). Se uno studio venisse ripetuto sulla stessa popolazione fonte, ci sarebbe ogni volta una certa variabilità nella popolazione in studio presa a campione dalla popolazione fonte. La strategia primaria per aumentare la precisione, data la variabilità nella popolazione fonte, è aumentare il numero di casi campione della popolazione in studio. Lo studio di un numero elevato di soggetti può essere costoso, occorre quindi, trovare un equilibrio tra la necessità di precisione e le esigenze collegate ai costi e alla logistica.

Uno studio di epidemiologia ambientale dovrebbe essere sufficientemente ampio in modo da assicurare che le stime degli effetti ipotizzati siano sufficientemente precise, data la variazione a cui sono soggette le variabili analizzate. L'analisi statistica degli studi epidemiologici è discussa nel Capitolo 7. Come rilevato in quel capitolo, lo scopo di un'analisi statistica è quello di valutare la precisione delle stime dei risultati osservati o di altre stime. Ad esempio, un'analisi statistica di

uno studio caso-controllo presenterà tipicamente l'odds ratio come una misura di effetto, con un intervallo di confidenza al 95% come indicazione della precisione della stima dell'odds ratio. E' inoltre possibile che l'analisi presenti **un valore p** come indicazione della probabilità che l'errore casuale sia responsabile dell'associazione osservata. Sebbene questi valori non possano essere calcolati fino a quando i dati non sono stati raccolti, è possibile stimare la precisione di uno studio formulando alcune ragionevoli ipotesi circa le distribuzioni statistiche delle variabili da analizzare. Dal momento che la precisione di uno studio è molto influenzata dal numero di soggetti coinvolti, questi calcoli possono essere utilizzati per stimare il numero di soggetti richiesti per raggiungere il potere statistico desiderato. (Si veda, ad esempio, Lwanga & Lemoshow, 1991 e Breslow & Day, 1987.)

### **Campionamento della popolazione**

Normalmente non è possibile studiare ogni membro della popolazione. Si ricorre quindi al campionamento per aumentare l'efficacia e ridurre i costi. La qualità del campionamento influenza non solo la precisione, ma anche il potenziale per il bias di selezione e per generalizzare i risultati dello studio.

L'**unità campionaria** è l'unità base attorno alla quale viene pianificata la procedura di campionamento (Kelsey *ed al.*, 1996). Nella maggior parte degli studi i soggetti sono scelti all'interno di una popolazione, e poi esaminati per caratteristiche di esposizione e in base al risultante stato di salute. L'individuo è dunque l'unità di campionamento che non consiste necessariamente di persone; potrebbero anche costituire un'unità di campionamento gli eventi demografici (natalità e mortalità), o le registrazioni degli individui all'interno di studi basati su dati esistenti. Negli studi di ecologia, l'unità di campionamento è un gruppo o una comunità.

La totalità delle unità campionarie della popolazione studiata è definita **ambito di campionamento**, cioè la popolazione dalla quale il campione è selezionato. Un **ambito di campionamento** è una lista o un metodo per l'accesso ad una popolazione fonte. Il campione (popolazione in studio) è un sottoinsieme dell'**ambito di campionamento**. Esempi di ambito di campionamento includono liste di accettazioni ospedaliere consecutive, liste di censimento e liste casuali di numeri telefonici relative alle comunità nelle quali tutte le abitazioni hanno presumibilmente il telefono. È essenziale identificare un sampling frame ben definito dalla quale estrarre un campione rappresentativo. Metodi di campionamento "informali", come l'utilizzo di volontari, di solito non producono campioni rappresentativi.

I pre-requisiti di un campione "affidabile" sono:

- **orientamento all'obiettivo:** la selezione del campione dovrebbe essere determinata dagli obiettivi dello studio, il disegno e le condizioni locali;
- **rappresentatività:** il campione dovrebbe essere rappresentativo della popolazione da studiare, in modo che le inferenze derivate dal campione possano essere generalizzate alla popolazione con precisione e affidabilità misurabili;
- **copertura:** un'adeguata copertura del campione è essenziale nel caso debba essere rappresentativo; la non disponibilità, un alto tasso di rifiuto e la perdita al follow-up possono rendere un campione non rappresentativo;
- **dimensioni:** un campione dovrebbe essere sufficientemente ampio per minimizzare la variabilità del campione e per assicurare che le stime delle caratteristiche della popolazione vengano fatte con precisione ragionevole;
- **costo-efficacia:** il campione dovrebbe essere tale che il risparmio in termini di costi e tempi possa essere raggiunto senza limitare eccessivamente gli obiettivi dello studio; certi tipi di campionamento possono avere un rapporto costo-efficacia migliore di altri, in rapporto alle condizioni locali.

I metodi di selezione degli individui tra le popolazioni sono stati descritti in svariati manuali di epidemiologia e statistica (si veda, ad esempio, Kelsey *ed al.*, 1996; Kahn & Sempos, 1989). Mentre un semplice campione casuale può sembrare il modo migliore per ottenerne uno rappre-

sentativo, in pratica ottenere campioni stratificati, sistematici, a grappolo o multi-stadio è solitamente più efficiente.

Il campionamento stratificato è più efficiente di un semplice campione se la distribuzione dei soggetti - conformemente a variabili rilevanti quali età o sesso - non è uniforme. Se la popolazione può essere suddivisa in sottogruppi che sono più omogenei, relativamente a variabili di interesse, di quanto non lo sia la popolazione nella sua interezza, la precisione dello studio può solitamente venire accresciuta attraverso la stratificazione (Kelsey *ed al.*, 1996).

Uno dei principali vantaggi del campionamento sistematico è che si rivela non necessario determinare l'intero ambito di campionamento dei potenziali soggetti prima dell'inizio del campionamento stesso. In aggiunta, in relazione alle condizioni esistenti, il campionamento sistematico è spesso più semplice di quella casuale. In tal modo campionare le nascite in un ospedale creando un campione sistematico ogni cinque nascite è più facile che applicare una procedura di selezione casuale per ogni nascita, con una probabilità pari a un quinto che quella nascita sia selezionata per il reclutamento. Lo svantaggio del campionamento sistematico, tuttavia, è che può risultare difficile identificare i percorsi interni all'ambito di campionamento, che potrebbero rendere il campione sistematico non rappresentativo. Si rivela, perciò, importante selezionare intervalli di campionamento che non siano associati all'esposizione o allo stato di salute. Ad esempio, il campionamento delle nascite in un ospedale non dovrebbe basarsi sul giorno della settimana, poiché l'induzione elettiva di nascite con complicanze è più probabile in alcuni giorni rispetto ad altri. I campioni sistematici sono anche limitati poiché la stima della varianza può essere difficile, a meno che non si assuma che un campione sistematico da una popolazione disposta a caso non differirebbe da un semplice campione casuale. La maggior parte degli studi fa propria questa ipotesi, e analizza campioni sistematici come se fossero semplici campioni casuali.

Molte caratteristiche ambientali o loro effetti sulla salute sono relativamente rari. Inoltre, può essere difficile identificare ambiti di campionamento di soggetti senza bias per studi epidemiologici ambientali. E' probabile che studi che utilizzano metodi di campionamento più complessi, multi-stadio, per aumentare l'efficienza diventino sempre più comuni (Morgenstern, 1993). Tuttavia, con questi metodi di campionamento è piuttosto difficile mantenere una chiara comprensione della relazione tra i soggetti in studio e la popolazione fonte.

#### **Box 3.7 Definizioni dei metodi di campionamento**

Semplice	Ogni unità campionaria della popolazione ha uguale probabilità di essere inclusa nel campione.
Stratificato	La popolazione è divisa in strati o gruppi di unità campionarie aventi certe caratteristiche in comune, e si estrae da ogni strato un campione casuale di unità.
Sistematico	Le unità campionarie selezionate presentano intervalli regolari all'interno dell'ambito di campionamento iniziando con un'unità selezionata a caso (ad esempio, ogni cinque nascite in un ospedale).
Cluster	Da una popolazione sono selezionati prima i gruppi, piuttosto che le unità campionarie individuali, poi si osservano tutte le unità campionarie presenti all'interno dei cluster selezionati.
Multi-stadio	Dalla popolazione si selezionano le unità campionarie primarie. Le unità secondarie sono poi campionate da ogni unità primaria, e così via. Il campionamento multi-stadio è simile al campionamento a cluster, ma, all'interno dei cluster, viene effettuato un campionamento aggiuntivo.

### 3.6 Criteri per la causalità

Uno studio epidemiologico mira, in genere, a determinare se un'esposizione ambientale è la causa dell'insorgenza di una data malattia. Un'associazione causale è quella in cui ad un cambiamento nella frequenza, o qualità di una esposizione o caratteristica risulta un corrispondente cambiamento nella frequenza della malattia o un altro effetto d'interesse. Ad ogni modo, non è sufficiente dimostrare l'esistenza di una valida associazione statistica fra esposizione e insorgenza della malattia in una popolazione per concludere che l'associazione sia causale; dovrebbero essere considerati criteri aggiuntivi. Hill (1965) ha elaborato un approccio sistematico all'inferenza causale, e una versione recente di questo approccio è descritta nella Tabella 3.4.

La **relazione temporale** è cruciale; nel senso che la causa deve precedere l'effetto. Tale fatto risulta di per sé palese, ma possono insorgere difficoltà durante gli studi (di solito gli studi caso-controllo o trasversali), quando le misurazioni dell'esposizione e dell'effetto sono compiute nello stesso momento (ad esempio attraverso un questionario, un'analisi del sangue). Per valutare se la relazione temporale è logica, deve essere conosciuto il periodo di induzione (il periodo di tempo fra l'esposizione causale e la fase iniziale del disturbo) per la malattia oggetto di studio. In alcune condizioni, quale il cancro ai polmoni, il periodo d'induzione può essere di quindici anni o più. Perciò, per gli agenti cancerogeni, l'esposizione causale deve precedere il disturbo clinico almeno per il periodo d'induzione.

Un'associazione è **plausibile** se è compatibile con un'altra conoscenza. Ad esempio, esperimenti di laboratorio possono aver dimostrato che una particolare esposizione ambientale può causare il cancro in animali di laboratorio, e questo renderebbe plausibile l'ipotesi che tale esposizione possa indurre il cancro nell'uomo. Comunque, la **plausibilità** biologica è un concetto relativo. Molte associazioni epidemiologiche erano state considerate non plausibili quando vennero scoperte per la prima volta, ma furono in seguito confermate da studi sperimentali. Un esempio è l'insorgere di una grave osteomalacia in una zona inquinata dal cadmio in Giappone (WHO, 1992a). Al principio, il meccanismo di tossicità indotta dal cadmio a livello osseo non era conosciuto e la causa era oggetto di discussione. La mancanza di plausibilità può riflettere semplicemente la mancanza di conoscenza medica.

Si verifica **coerenza** se diversi studi danno lo stesso risultato. Se si utilizzano progetti distinti in ambienti differenti, la possibilità che tutti gli studi portino allo stesso errore è ridotta al minimo. Tuttavia, una mancanza di coerenza non esclude un'associazione causale. In alcuni studi i livelli di esposizione possono essere così bassi che non si hanno effetti sulla salute.

La **forza dell'associazione** è importante per il fatto che è più probabile che un rischio relativo fortemente elevato possa rivelarsi causale rispetto ad un'associazione debole che potrebbe essere influenzata dal confondimento o da altri bias. Tuttavia, il fatto che un'associazione sia debole non la preclude dall'essere causale; piuttosto, significa che è più difficile escludere spiegazioni alternative per l'associazione osservata.

Si può dire che esista una **relazione dose-risposta** quando cambiamenti nel livello di esposizione sono associati a cambiamenti d'incidenza o prevalenza dell'effetto. La dimostrazione di una chiara relazione dose-risposta fornisce una prova evidente di una relazione causale, dal momento che è di solito improbabile che il confondimento o altri bias producano una coerente relazione dose-risposta.



**Tabella 3.4 Linee - guida dell'inferenza causale**

Relazione temporale	La causa precede l'effetto? (essenziale)
Plausibilità	L'associazione è coerente con altre conoscenze (ad esempio, rispetto al meccanismo di azione, evidenze in esperimenti su animali)?
Coerenza	Altri studi hanno dato risultati simili?
Forza	Qual è la forza dell'associazione fra la causa e l'effetto? (rischio relativo)
Relazione dose - risposta	L'aumento dell'esposizione alla possibile causa è associato all'aumento dell'effetto?
Reversibilità	La rimozione di una possibile causa porta alla riduzione del rischio di malattia?
Progetto di studio	La dimostrazione si basa su un valido disegno dello studio?
Valutazione dell'evidenza	Quante linee diverse di evidenza conducono alla conclusione?

*Fonte: Beaglehole ed al., 1993.*

Anche la **reversibilità** è rilevante per il fatto che, quando la rimozione di un'ipotetica causa comporta una netta riduzione di rischio della malattia, la probabilità che l'associazione sia causale viene rafforzata. Tuttavia, l'effetto dell'esposizione sulla salute può essere irreversibile (ad esempio, la sordità totale causata dal rumore di uno sparo di arma da fuoco), e la reversibilità non è un criterio necessario per la casualità.

Infine, l'inferenza causale è rafforzata dai dati provenienti da studi che utilizzano un valido **disegno dello studio**, e qualora sia disponibile **evidenza** derivata da diversi tipi di studi.

## 4 VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

### **Obbiettivi didattici:**

- saper descrivere i concetti di esposizione e di dose;
- saper descrivere i principali metodi di misura dell'esposizione ambientale negli studi epidemiologici;
- saper descrivere i principali metodi di modellizzazione dell'esposizione ambientale negli studi epidemiologici;
- comprendere come applicare negli studi di epidemiologia ambientale i diversi metodi di valutazione dell'esposizione globale, di campionamento personale e biologico;
- riconoscere la variabilità inter-individuale e intra-individuale nell'interpretazione delle misure di esposizione;
- riconoscere l'importanza della standardizzazione, della verifica e del controllo di qualità, in relazione all'esecuzione e all'analisi delle misurazioni ambientali;
- saper descrivere i principali profili e matrici nelle esposizioni ambientali.

### **4.1 Concetti relativi alla valutazione dell'esposizione**

L'esposizione a un agente ambientale è definita come il contatto fra un agente potenzialmente dannoso presente in una matrice ambientale (come l'aria, l'acqua o gli alimenti) e una superficie del corpo umano (come la cute o la parete del tratto digestivo o respiratorio) (Sexton & Ryan 1988; Armstrong *et al.*, 1992). Tra gli agenti potenzialmente dannosi o pericolosi presenti nell'ambiente sono inclusi le sostanze chimiche, i fenomeni fisici, come il rumore e le radiazioni, e gli organismi viventi, come batteri e funghi. Sono rilevanti fattori nocivi ambientali anche quelli legati alla sicurezza e quelli psicosociali; in questo capitolo, però, faremo riferimento ai fattori chimici e fisici, come esempi didattici.

I principali metodi per valutare l'esposizione riguardano la classificazione, la misurazione, la modellizzazione. La classificazione si riferisce all'identificazione di sottogruppi di soggetti in base a categorie ordinali di esposizione, la classificazione più comune è quella dicotomica - ad esempio esposti e non esposti. La misurazione dell'esposizione consiste, in genere, nell'uso di uno strumento che misura il valore di una variabile di esposizione. La modellizzazione dell'esposizione usa modelli matematici per predire il valore di una variabile di esposizione. I modelli si basano sulla conoscenza dei fattori che determinano o influenzano la variabile e sulla relazione quantitativa fra questi fattori e l'esposizione.

Per poter stimare con il minimo errore e la massima efficienza gli effetti dei fattori ambientali sulla salute umana, sono di cruciale importanza l'accuratezza e la precisione delle misure di esposizione. Purtroppo, il costo della misurazione dell'esposizione cresce, in genere parallelamente, all'aumento di accuratezza e precisione. D'altro lato, se si riduce la dimensione dello studio, a causa dell'alto costo delle misurazioni, si può abbassare la precisione della stima d'effetto. Gli epidemiologi devono pertanto decidere in merito all'uso ottimale delle risorse disponibili, essendo generalmente limitati i fondi per gli studi di epidemiologia ambientale.

Dal momento che è difficile e costoso ottenere misure di esposizione individuale, si usano spesso **variabili surrogate di esposizione**, che sono approssimazioni della esposizione effettiva. Queste variabili possono derivare da dati di questionari, da dati esistenti di esposizione o da altri indicatori, come la distanza da una fonte inquinante. L'uso di variabili surrogate può rendere lo studio fattibile in termini economici, ma comporta una qualità inferiore dei dati rispetto all'uso di misure dirette di esposizione. Gli epidemiologi devono quindi considerare le ricadute, in termini di costi, fattibilità, validità e precisione, delle scelte riguardanti la stima dell'esposizione.

### **Profili di esposizione**

Benché i rischi ambientali per la salute assumano varie forme e ciò comporti che l'esposizione uma-

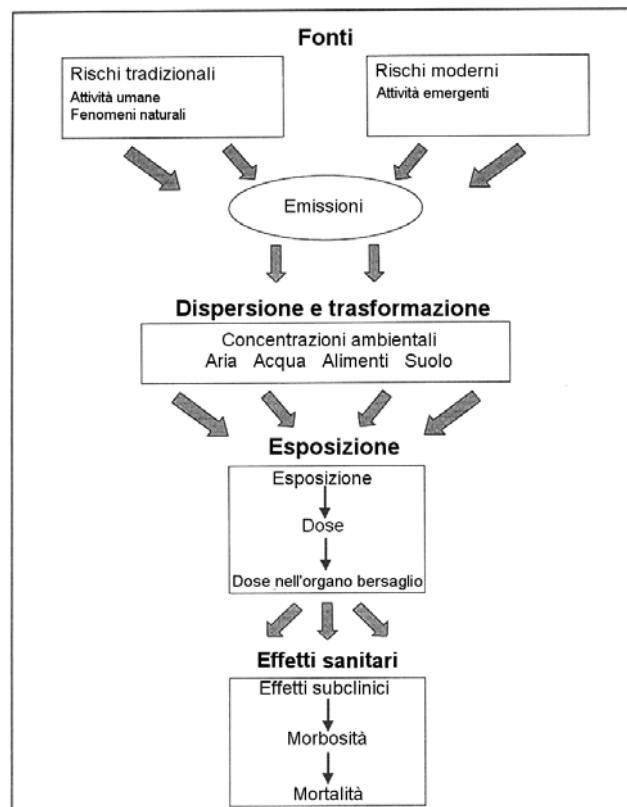
na possa derivare da fonti molteplici, la successione degli eventi è abbastanza simile per ciascun percorso (vedi Fig. 4.1). La fonte, nel caso di “inquinanti”, è un’attività umana o, più raramente, un processo naturale che rilascia nell’ambiente agenti (inquinanti) potenzialmente tossici, infettivi o altrimenti pericolosi. Il processo di rilascio è chiamato **emissione**. Una volta emessi nell’ambiente, gli inquinanti sono sottoposti tipicamente a un processo di **dispersione**, durante il quale si diffondono nell’ambiente attraverso l’aria, l’acqua, gli alimenti o il suolo - generalmente indicati come **matrici ambientali**. L’esposizione avviene quando gli individui incontrano gli inquinanti nell’ambiente.

Durante la dispersione, gli inquinanti possono subire trasformazioni di vario tipo. La diluizione avviene per mescolamento con la matrice di trasporto (l’aria o l’acqua, ad esempio). Separazione e segregazione di inquinanti possono avvenire in relazione alle loro proprietà fisiche - quali dimensione, massa o densità. Avvengono poi reazioni chimiche che modificano gli inquinanti originali convertendoli in nuovi composti, talora più pericolosi di quelli di partenza. Ne risulta che molti inquinanti mostrano caratteristiche complesse. Tale complessità implica che può essere difficile misurare o modellizzare le tipologie di esposizione e, di conseguenza, determinare i livelli di esposizione umana (Briggs *et al.*, 1996). Gli epidemiologi devono prepararsi a misurare esposizioni ambientali composte da molteplici agenti potenzialmente tossici, diffusi attraverso matrici ambientali multiple, poiché l’esposizione umana può aver luogo per più vie (Armstrong *et al.*, 1992).

### Concentrazione ambientale, esposizione e dose

E’ già stata trattata la distinzione di base fra “concentrazione”, “esposizione” e “dose” ambientale (vedi paragrafo 1.3 e paragrafo 2.2). La **concentrazione** di un agente in una matrice ambientale rappresenta la presenza dell’agente in quel particolare contesto, espressa quantitativamente. L’esposizione umana all’agente avviene solo se si realizza il contatto fisico fra il mezzo e la superficie del corpo umano. Questa distinzione è particolarmente importante in relazione a matrici ambientali come il suolo, che può essere inquinato, ma che non entra necessariamente in contatto con il corpo umano.

**Figura 4.1 Il percorso dei rischi ambientali per la salute**



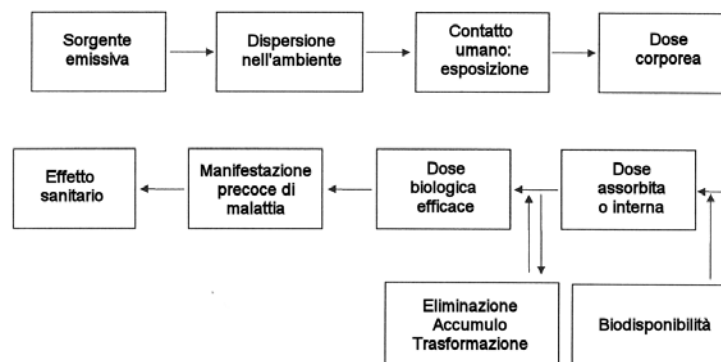
Fonte: Briggs *et al.*, 1996

Il contatto dell'uomo con l'ambiente, e così l'esposizione, avvengono principalmente nel tratto respiratorio attraverso **inalazione**, nel tratto gastrointestinale per **ingestione** e attraverso la cute per **assorbimento**. L'entità del contatto fra la matrice ambientale e queste superfici determina il livello di esposizione, mentre il principale fattore che influenza l'entità del contatto è la durata dello stesso. Anche l'attività umana può incidere. L'individuo che svolge un esercizio intenso o un lavoro fisico pesante può inalare al minuto dieci volte più aria di una persona a riposo. Ugualmente, l'individuo che è in esercizio consumerà molta più acqua (o altri liquidi) di una persona a riposo, soprattutto in ambienti caldi. Inoltre il tipo di liquido consumato influenzerà l'esposizione. Alcune persone, ad esempio, bevono soprattutto bevande analcoliche e possono quindi essere esposte pesantemente a tutti i contaminanti dell'acqua potabile. Similmente, coloro che passano molto tempo esposti al sole o all'aperto vanno incontro a esposizione a luce ultravioletta (UV) maggiore delle persone che non prendono mai il sole e che passano poco tempo all'aperto.

Il termine **dose** si riferisce alla quantità di fattore nocivo ambientale che entra nel corpo umano. Per agenti inalati o ingeriti si può distinguere fra la dose che entra nel corpo e la **dose interna**, o **assorbita**, che è quella effettivamente assorbita attraverso la parete dei polmoni e del tratto gastrointestinale. Questa distinzione è necessaria perché alcuni agenti possono essere espulsi dal corpo senza essere assorbiti. E' spesso difficile ottenere la misura diretta della dose e si deve fare affidamento, piuttosto, su una stima. Se le esposizioni ambientali sono complesse o difficili da quantificare, può essere preferibile, in base a considerazioni di costi e di fattibilità, usare indicatori biologici della dose (chiamati in genere "indicatori biologici di esposizione"). Misurare il piombo nel sangue, ad esempio, è il modo più efficace per valutare l'esposizione integrata a piombo, che deriva da più matrici, piuttosto che misurare il piombo in ogni matrice e quindi cercare di cumulare le singole misurazioni (vedi Capitolo 2 per una trattazione sui bioindicatori).

Una volta assorbito nell'organismo, l'agente si può distribuire in vari tessuti o si può trasformare per via metabolica, prima di raggiungere l'organo bersaglio (target) (cioè il tessuto dove esplica gli effetti dannosi). Come definito nel Capitolo 2, **la dose nell'organo target** si riferisce alla quantità dell'agente che raggiunge l'organo dove si possono produrre effetti. Un termine equivalente è la **dose biologica efficace** che è la dose direttamente correlata agli effetti biologici. La dose biologica efficace è la misura più significativa per valutare gli effetti sulla salute, dal momento che rappresenta la quantità di agente che è biologicamente attivo nell'organo target. Questa dose non è misurabile, di fatto, e pertanto deve essere stimata. Possono essere utilizzate allo scopo tecniche consistenti in modelli dosimetrici e farmacocinetici, combinati con misure di esposizione e bioindicatori (Hatch & Thomas, 1993). La Figura 4.2 riporta più dettagliatamente il percorso degli inquinanti, mostrando un continuum fra esposizione ed effetti sulla salute.

**Figura 4.2 Sequenza dei rischi ambientali: dalla dispersione agli effetti sulla salute**



Fonte: Lioy, 1990

Le differenze fra concentrazioni ambientali, esposizione e dose possono essere illustrate utilizzando come esempio il monossido di carbonio (CO). Quest'ultimo è un gas inodore, incolore, prodotto dal-

la incompleta combustione di combustibili fossili. Il traffico autoveicolare è la principale fonte di CO. La sua concentrazione in atmosfera all'aperto (outdoor) è un indicatore di esposizione potenziale. Tuttavia molte persone passano un tempo considerevole in ambienti chiusi (indoor), dove la concentrazione di CO può essere minore, oppure può essere elevata in presenza di stufe o condotte con perdite di fumo, o in presenza di fumo di tabacco. Di conseguenza, l'esposizione effettiva può non essere corrispondente alle misurazioni ambientali. Il termine "esposizione a CO" dovrebbe pertanto essere usato in rapporto alla concentrazione di CO nell'aria con cui il soggetto entra effettivamente in contatto.

La dose è l'ammontare di CO che entra nel corpo durante il periodo di interesse. Dopo che è stato inalato viene trasportato attraverso l'epitelio alveolare (superficie di scambio polmonare). Il CO nell'aria alveolare raggiunge l'equilibrio con quello nel sangue dopo 20 secondi. La concentrazione di CO nell'aria espirata (misurata dopo che il soggetto ha inalato per 20 secondi) è in genere una misura di dose assorbita. Il CO produce effetti dannosi in quanto si lega all'emoglobina più rapidamente dell'ossigeno. La concentrazione di carbossiemoglobina (COHb) è pertanto una misura di dose biologicamente attiva. La Tabella 4.1 mostra la relazione fra concentrazione esterna di CO e livello di COHb, in rapporto all'attività fisica dei soggetti esposti indica che una maggiore durata di esposizione a concentrazioni più basse produce all'incirca la stessa COHb di una esposizione di breve durata a concentrazioni più elevate, mostra altresì che la dose biologicamente efficace (livello di COHb) è maggiore in coloro che svolgono lavori pesanti rispetto a chi svolge attività più leggere, a causa del tasso respiratorio più elevato nei primi.

**Tabella 4.1 Livelli presunti di carbossiemoglobina in soggetti impegnati in differenti tipi di lavoro**

Concentrazione di ossido di carbonio  (mg/m <sup>3</sup> )	Tempo di esposizione  (minuti)	Livelli presunti di COHb		
		Lavoro sedentario	Lavoro moderato	Lavoro pesante
115	15	1.2	2.0	2.8
57	30	1.1	1.9	2.6
29	60	1.1	1.7	2.2
11.5	480	1.5	1.7	1.7

Fonte: da WHO, 1987

Considerazioni simili si applicano ad altri scenari di esposizione, quali quelli degli alimenti e dell'acqua. Vegetali prodotti in prossimità di strade principali possono contenere piombo, ma la popolazione sarà esposta ad esso solo nel caso essa se ne cibi. La dose deriva dall'ammontare di piombo effettivamente assunto nell'organismo attraverso il canale alimentare, che è influenzato da fattori come lo stato nutrizionale. Ugualmente, la presenza di nitrati nelle acque profonde non costituisce di per sé un'esposizione ambientale fino a che l'acqua non viene usata a scopo potabile. La dose sarà determinata dall'entità di assunzione nel tratto gastroenterico dei nitrati presenti nell'acqua.

### Considerazioni in merito a tempo e spazio

La stima dell'esposizione deve considerare la **relazione temporale** fra esposizione ed effetto. Esiste un modello temporale caratteristico per ciascun agente, relativo all'insorgenza degli effetti avversi (generalmente noto come periodo di latenza). Fattori legati all'ospite, come età, genere e stato immunitario, possono influenzare questo modello. Alcuni effetti sono estremamente acuti e compaiono appena pochi secondi dopo l'esposizione. Fra gli esempi troviamo il disturbo che segue l'esposizione a odori o a rumore, o l'irritazione delle mucose che segue a quella a fumo di tabacco. Altri effetti sulla salute si manifestano alcuni minuti dopo l'esposizione, come le reazioni allergiche al pelo degli animali e a pollini, o come l'asfissia da esposizione elevata a CO. Infine, altri effetti compaiono solo dopo anni di esposizione cumulativa, come il danno tubulare renale da esposizione a cadmio. Molti tumori si sviluppano numerosi anni dopo l'esposizione ai cancerogeni. La misurazione dell'esposizione richiede pertanto la conoscenza del meccanismo dell'effetto che si va a studiare.

Il **profilo temporale** dell'esposizione è importante anche perché può influenzare l'impatto sulla salute. Esperimenti animali, ad esempio, hanno mostrato che gli effetti di una dose di biossido di azoto ( $\text{NO}_2$ ), somministrata per un periodo fisso, dipendono largamente dalle modalità di somministrazione (ad esempio concentrazioni intermedie continuative o basse e alte per periodi alterni. Miller *et al.*, 1987). Ugualmente, esperimenti sull'uomo hanno mostrato che l'ozono ( $\text{O}_3$ ) produce un effetto maggiore se somministrato a concentrazione non-costante piuttosto che costante, per un dato periodo (Hazucha *et al.*, 1992). Lo stesso vale per la sensazione di fastidio successiva alla esposizione a sostanze odorose. Una pratica comune nella misurazione degli andamenti dell'esposizione è distinguere fra esposizione media e di picco (che rappresenta la più alta concentrazione di esposizione, anche di breve periodo).

I livelli di inquinamento mostrano tipicamente andamenti diversi su differenti scale temporali. In molti casi esiste un trend a lungo termine, che riflette i cambiamenti corrispondenti nei tassi di emissione (dovuti, ad esempio, a cambiamenti tecnologici). Si possono sovrapporre variazioni annuali, che riflettono differenze climatiche o nell'attività delle fonti inquinanti. Molti inquinanti mostrano anche marcati andamenti stagionali, settimanali e diurni, legati ad attività cicliche, a cicli climatici a breve termine e ad altri effetti. Episodi di inquinamento a breve termine possono anche risultare da rilasci accidentali improvvisi. Le misurazioni della esposizione devono quindi essere appropriate rispetto al tempo in cui si esegue il campionamento ed alla durata delle misure individuali (Briggs *et al.*, 1996).

Le considerazioni sulla **variabilità spaziale** sono altresì importanti: gli essere umani non vengono in contatto con i fattori di rischio ambientale se tenuti a distanza da essi. La geografia della contaminazione ambientale è complessa. Inquinanti diversi possono derivare da una ampia gamma di fonti. Le emissioni di queste fonti possono avvenire sia per percorsi controllati, come camini o tubazioni, sia come emissioni "fuga", rilasciate inavvertitamente nell'ambiente. Una volta nell'ambiente, gli inquinanti possono essere soggetti a processi diversi, che li possono disperdere o trasformare. Ne risulta che i modelli spaziali di esposizione possono differire notevolmente: alcuni inquinanti possono essere distribuiti ovunque e in modo abbastanza uniforme, altri mostrano andamenti più localizzati. Inquinanti atmosferici - come il biossido di zolfo - che sono emessi soprattutto da ciminiere di impianti energetici e da altri impianti di combustione, possono essere largamente dispersi. L'inquinamento organico dell'acqua potabile, in contrasto, avviene di solito a livello di circondario o di edificio. La contaminazione degli alimenti può essere specifica di un prodotto particolare e interessare tutti i gruppi di popolazione che consumano il prodotto stesso, o può essere specifica di un ambito familiare, dove si è verificata una conservazione inadeguata dal punto di vista igienico. L'esposizione a campi elettromagnetici varia notevolmente al variare di piccole distanze.

E' importante tenere conto dei modelli spaziali tipici dell'esposizione, particolarmente in relazione all'abitazione e al quartiere, poiché molte indagini ambientali si basano su questi ambiti. Per gli agenti chimici e biologici, la concentrazione nell'aria interna alle abitazioni è spesso più importante - in termini di esposizione umana - della concentrazione nell'aria esterna. Ciò a causa del fatto che molti individui passano più tempo in casa che fuori. Ugualmente, l'esposizione a inquinanti atmosferici può avvenire solo se le abitazioni e i luoghi di lavoro si trovano nelle vicinanze di siti contaminati da sostanze volatili e se l'aria indoor diventa essa stessa contaminata.

### **Esposizione integrata e globale**

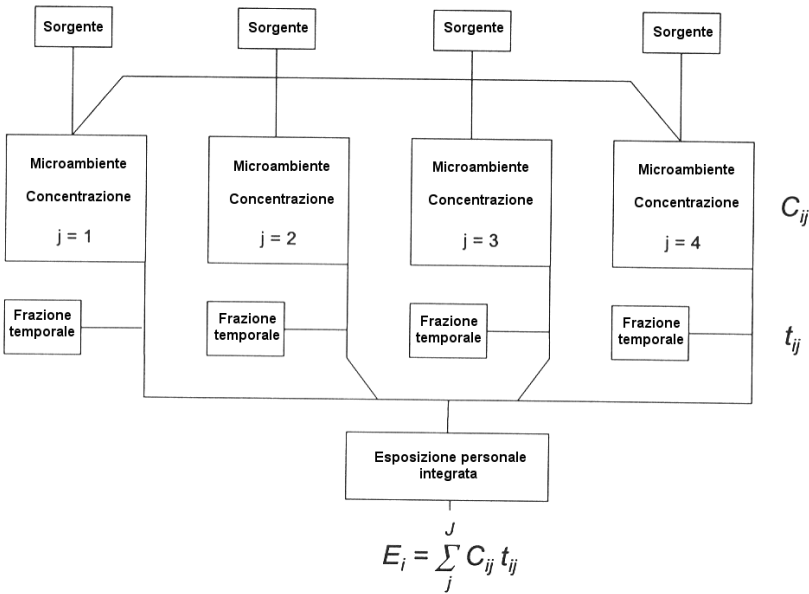
La stima dell'esposizione può essere relativamente semplice se l'obiettivo dello studio è determinarne l'effetto rispetto a un singolo agente attraverso una singola via. Ad esempio, uno studio potrebbe voler valutare se l'assunzione di sale attraverso la dieta si associa con un'alta pressione sanguigna. Varie tecniche (descritte più avanti) potrebbero essere usate per misurare il contenuto di sale in ciascun componente della dieta di un individuo e per sommarne il contenuto totale. Questo approccio può essere giustificato se l'esposizione attraverso altre vie è o molto bassa o se sono già disponibili le conoscenze relative ad esse.

Tuttavia anche lo studio di un singolo agente e di un singolo percorso deve tenere conto della variazione spaziale e temporale. Per esempio, l'esposizione a monossido di carbonio può differire abbastanza nettamente fra indoor e outdoor. Viene anche influenzata dalla presenza o meno di fumo di sigaretta e dall'uso dei combustibili per cucinare o riscaldare. La valutazione dell'esposizione dovrebbe, pertanto, misurare per ciascun contesto la concentrazione di CO e la durata, e poi stimare l'esposizione integrata potenziale - in genere usando una media pesata nel tempo, in cui la concentrazione di CO in ciascun contesto è moltiplicata per la proporzione di tempo trascorso in esso (vedi Figura 4.3). Ciascun ambito - come l'abitazione e l'automobile - può essere considerato un microambiente diverso. Il concetto di microambiente è discusso al paragrafo 4.3. Questo approccio integrato necessita di considerare anche i livelli di attività (stare seduti o fare esercizio fisico), che possono modificare il tasso respiratorio, e così l'esposizione effettiva a CO atmosferico.

Box 4.1 Esempi di valutazione dell'esposizione globale per singolo agente			
<b>Fonte unica -</b>			
aria	Biossido di zolfo (SO <sub>2</sub> )	100%	
<b>Fonte multipla -</b>			
	Benzene		
	<b>Introduzione (µg/die)</b>	<b>Contributo medio per fumatore di 1 pacchetto/die</b>	
aria	30-300	18.6%	
acqua	1-5	0.3%	
alimenti	100-250	17.5%	
fumo	600/pacchetto	63.6%	

Fonte: Wallace, 1987

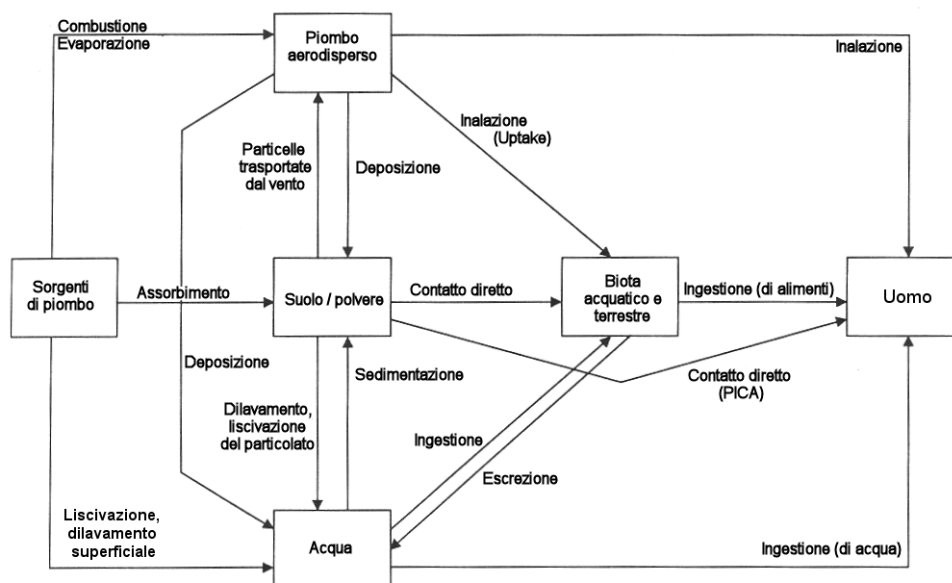
Figura 4.3 Calcolo dell'esposizione integrata



Il più delle volte è necessario stimare l'esposizione che risulta da fonti multiple, in differenti condizioni spaziali e temporali. In questi casi si deve stimare l'**esposizione globale**. L'esposizione a molti dei contaminanti presenti nell'acqua potabile e nel suolo, ad esempio, può avvenire anche per via diversa. Una volta stabilito il periodo di misura più appropriato per l'esposizione (sulla base della conoscenza della latenza e dell'andamento temporale), per ciascuna via devono essere raccolti dati sulle concentrazioni e sulla durata dell'esposizione a ciascuna concentrazione. I dati sono poi combinati o integrati per ottenere la misura dell'esposizione globale. Il periodo di tempo per il quale si effettua l'integrazione è chiamato **periodo di integrazione temporale**. In alternativa può essere disponibile

un indicatore biologico, come la concentrazione di piombo nel sangue o nel tessuto osseo, che di per sé rappresenta l'esposizione integrata per il periodo temporale di interesse. La Figura 4.4 illustra le interrelazioni fra fonti e percorsi per il piombo atmosferico; se cambia l'esposizione di un percorso, verosimilmente cambia anche quella degli altri. Se, ad esempio, si riduce il contenuto di piombo nelle benzine non solo si abbasserà la concentrazione atmosferica di piombo, ma diminuiranno anche le concentrazioni di piombo in altre matrici ambientali. Il processo di integrazione varierà secondo gli obiettivi dello studio, l'agente e la via di esposizione, come mostrato per aria, acqua e alimenti nella Figura 4.4.

**Figura 4.4** Interrelazioni fra sorgenti e percorsi del piombo in atmosfera



Fonte: modificato da Grisham, 1986, 1986; Van Hook, 1978

Gli obiettivi dello specifico studio determineranno quale tipo di valutazione dell'esposizione globale deve essere fatta. Se, ad esempio, lo scopo è investigare la relazione fra esposizione a piombo e certi effetti sanitari, dovrebbe essere più efficace valutare l'esposizione globale attraverso il monitoraggio biologico, misurando la concentrazione di piombo nel sangue, o in altre matrici biologiche come i denti decidui o le ossa, piuttosto che attraverso il monitoraggio ambientale. Ma se lo scopo è valutare il contributo ai livelli di esposizione di differenti fonti ambientali o scenari, l'esposizione dovrebbe essere valutata per ciascuno di questi.

### Esposizione combinata

Un effetto sulla salute può essere causato da più di un fattore ambientale. In tal caso la valutazione dell'esposizione dovrebbe includere ognuno dei fattori rilevanti. L'obiettivo potrebbe essere determinare il loro effetto combinato rispetto ad un esito sanitario, calcolando un indice di esposizione globale. In alternativa, può essere importante determinare l'effetto relativo sia dell'esposizione separata che combinata. Questo obiettivo si riconduce al tema del confondimento e della modificazione di effetto, affrontato nel Capitolo 3.

I quesiti da risolvere includeranno:

Quali sono gli effetti separati (indipendenti) di ciascun agente o fattore?

In che misura l'esposizione a un agente o fattore modifica gli effetti dell'esposizione a un altro agente o fattore? (Vedere l'esempio nel Box 4.2)

In che misura l'esposizione combinata a più di un agente o fattore produce effetti additivi, sub-additivi o super-additivi? (Un effetto **sub-additivo** significa che l'effetto combinato è minore di quello atteso da una semplice combinazione o addizione degli effetti separati. Un effetto **super-additivo** significa che l'effetto è più severo di quello atteso per semplice addizione degli effetti separati) (vedere l'esempio nel Box. 4.3).



Esempi di effetti super-additivi comprendono l'aumento di effetto da esposizione a un irritante aereo durante la stagione allergenica (quando i pollini di piante arboree o erbacee aerodispersi causano reazioni allergiche) fra le persone che soffrono di allergie stagionali. Viceversa, l'esposizione ad un irritante aereo può modificare l'effetto dell'esposizione a un allergene. In uno studio di Molfino *et al.* (1991), pazienti asmatici allergici all'*Ambrosia* furono esposti a ozono in una camera. Essi si mostrarono molto più suscettibili agli antigeni dell'*Ambrosia* dopo esposizione a ozono che dopo esposizione ad aria pura.

#### **Box. 4.2 Condizioni meteorologiche e inquinamento atmosferico**

Le condizioni meteorologiche e l'inquinamento atmosferico possono influire sugli stessi esiti sanitari. Periodi di temperatura estremamente alta o bassa aumentano la mortalità. Inoltre, periodi di temperatura molto elevata o molto bassa spesso coincidono con un aumento delle concentrazioni degli inquinanti atmosferici. Gli studi degli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla mortalità sono quindi normalmente aggiustati per gli effetti della temperatura (Schwartz & Dockery, 1992a; Schwartz & Dockery, 1992b; Dockery *et al.*, 1993a; Schwartz 1993). Senza tale aggiustamento si può essere indotti, in qualche caso, a concludere che l'esposizione ad inquinanti atmosferici da sola aumenta la mortalità, quando di fatto è la temperatura estrema responsabile di una parte dell'aumento osservato.

La situazione diviene anche più complicata se c'è interazione fra condizioni climatiche o meteorologiche e inquinamento atmosferico - gli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla salute umana possono essere incrementati o ridotti, quando le temperature sono estremamente alte o basse. Interazioni possono avvenire, ad esempio, fra inquinamento dell'aria e mortalità (Katsouyanni *et al.*, 1993). Oppure soggetti deboli, già in difficoltà per temperature molto basse o molto alte, possono manifestare effetti avversi per esposizione a livelli di inquinamento atmosferico minori rispetto a quelli in assenza dello stress legato alla temperatura. Ugualmente, dopo esposizione ad aria fredda sono risultati aumentare sperimentalmente gli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla funzionalità polmonare degli asmatici (vedere, ad esempio, Sheppard *et al.*, 1984; Dosman *et al.*, 1991). Anche l'anidride solforosa ha mostrato un minor effetto sulla funzione polmonare degli asmatici in condizioni di temperatura ed umidità elevate rispetto a quando i soggetti studiati si trovavano a temperatura ambiente o in condizioni di bassa umidità relativa (Linn *et al.*, 1985).

#### **Box 4.3 Misura dell'esposizione a composti organici volatili**

Siamo esposti a molti composti organici volatili (COV) presenti nell'aria ambiente e indoor, in genere a basse concentrazioni. Lo studio Total Exposure Assessment Methodology (TEAM) fu sviluppato per valutare l'esposizione personale a una miscela di contaminanti, compresi i COV (Wallace, 1987). Il campionamento personale è stato realizzato facendo indossare ai soggetti piccoli campionatori portatili che catturano i COV su assorbitori. Nello studio sono stati anche misurati i COV nell'aria espirata per ottenere una stima di dose interna. E' risultata una buona correlazione fra il campionamento personale ed i COV nell'aria espirata, tuttavia questi livelli non si correlano con quelli ambientali (outdoor). Questo fatto sottolinea l'importanza di distinguere fra esposizione indoor e outdoor per questa classe di sostanze.

Nell'aria indoor, la concentrazione dei COV totali è la somma delle concentrazioni dei singoli inquinanti che compongono i COV stessi. Sebbene sia stato documentato l'effetto avverso sulla salute dei singoli inquinanti (vedere, ad esempio, Molhave, 1991) rimane aperta la questione relativa alla loro interazione. In particolare non è chiaro se i COV combinati causino effetti impercettibili sulla salute, non prevedibili sulla base della valutazione dei singoli inquinanti. Molhave (1991) ha rivisto gli effetti vari di miscele di COV in gruppi di soggetti risultati sensibili ai COV in studi controllati di esposizione. Questi studi indicano che irritazione e malessere sensoriale possono essere documentati a livelli di concentrazione totale di  $3\text{-}25\text{mgCOV/m}^3$ , che è al di sotto della concentrazione che sarebbe prevista dagli studi sui singoli composti chimici, suggerendo che si produce un effetto super-additivo.

### **Variabilità individuale e di gruppo nella relazione fra esposizione e dose biologica efficace**

In uno studio epidemiologico, la variabilità fra individui nell'assorbimento, metabolismo e distribuzione interna di un agente nocivo può portare a un errore casuale nella misura della relazione fra esposizione, dose biologica efficace ed effetto sanitario. In aggiunta, può verificarsi un errore sistematico dovuto al confondimento o a modificazione d'effetto, se i gruppi in studio differiscono fra loro rispetto alle loro caratteristiche tossicocinetiche. Potrebbe accadere, ad esempio, qualora i gruppi in studio da confrontare mostrino differenze genetiche nella loro capacità nel metabolizzare una tossina assorbita. Sarebbe possibile anche identificare e misurare le caratteristiche genetiche rilevanti e quindi utilizzare queste variabili in sede di analisi, per controllare le differenze fra i gruppi in studio.

Fattori sociali e altro possono anche intervenire nel mascherare e distorcere l'associazione fra esposizione ed esiti sanitari. Il clima e il livello di urbanizzazione influenzano la quantità di tempo che le persone passano in ambiente indoor o outdoor; le differenze culturali nella dieta possono influenzare il grado di esposizione a un agente nocivo, attraverso l'acqua, gli alimenti e il suolo. Questi fattori dovrebbero essere considerati quando si sviluppano tecniche di misurazione dell'esposizione e quando si attuano modelli di esposizione e di dose sulla base delle misurazioni delle concentrazioni ambientali.

### **4.2 Matrici e scenari di esposizione**

Molti inquinanti si diffondono nell'ambiente attraverso l'aria, l'acqua, il suolo, le polveri, gli alimenti prima di venire in contatto con il corpo umano. Gli inquinanti devono, in genere, essere inalati o ingeriti per dar luogo a un'esposizione. Per certi agenti è importante anche il contatto cutaneo.

#### **Aria**

L'inquinamento dell'aria si differenzia dalle altre forme di esposizione ambientale per il fatto che, una volta che in essa siano presenti degli inquinanti, l'esposizione non può essere facilmente evitata. Di conseguenza, poiché non si può evitare di respirare, se in una città si producono alti livelli di inquinamento atmosferico, ne risulterà esposta una larga parte della popolazione cittadina. Ciononostante livelli di inquinamento dell'aria possono variare marcatamente anche localmente, specialmente nel caso di emissioni a bassa quota (come da trasporto stradale), a causa di variazioni nella velocità e direzione del vento, nella pioggia e nella morfologia della zona. Variazioni a breve termine nei livelli di inquinamento possono anche essere prodotte da cambiamenti di attività delle emissioni.

Le concentrazioni di inquinanti in atmosfera possono variare considerevolmente nel tempo, anche se le emissioni sono costanti, in relazione a fattori meteorologici come direzione e velocità del vento, turbolenza e altezza dello strato di mescolamento. Se sono noti il numero, l'altezza e la collocazione delle fonti di emissione, i modelli diffusionali possono stimare le concentrazioni dell'inquinamento in punti specifici. Questi modelli tendono tuttavia a essere inaffidabili se il tempo di integrazione è breve, o se le fonti non sono ben definite, o se la morfologia è estremamente varia. Tutte queste condizioni sono comuni nelle aree urbane.

In aggiunta, i livelli di esposizione a inquinanti dell'aria outdoor varieranno in rapporto alla proporzione di tempo che le persone trascorrono all'aperto e alla capacità dei singoli inquinanti di trasferirsi in ambiente chiuso. Molte persone passano la maggior parte del loro tempo al chiuso, soprattutto in casa. Altro tempo è trascorso al lavoro, a scuola e in trasferimenti. Nei paesi a clima più freddo, in particolare, il tempo medio trascorso all'aperto è solo di poche ore e tende ad essere anche più breve quando la popolazione di un paese è prevalentemente urbanizzata.

La concentrazione di inquinanti nell'aria indoor può essere più bassa o più alta di quella outdoor. Può essere più bassa se gli inquinanti sono filtrati quando attraversano l'"involucro" dell'edificio. Il particolato sospeso, ad esempio, viene parzialmente filtrato nel passaggio da esterno a interno. L'entità della filtrazione dipende dalla dimensione delle particelle: in generale le particelle grandi penetrano meno di quelle piccole. La concentrazione dell'inquinamento dell'aria indoor può differire da quella outdoor anche quando gli inquinanti reagiscono con le superfici interne. L'ozono, ad esempio, è un sostanza chimica altamente reattiva e le concentrazioni indoor sono tipicamente molto più basse di

quelle outdoor. L'ossido di carbonio, al contrario, è relativamente inerte e, in assenza di fonti indoor, le concentrazioni non differiscono grandemente fra fuori e dentro.

I livelli di inquinamento dell'aria indoor possono essere molto più alti di quelli esterni, se sono presenti fonti di inquinamento indoor. In una abitazione si trovano molte fonti di inquinamento dell'aria. Impianti non ventilati, o inadeguatamente ventilati, per il riscaldamento dell'ambiente e/o dell'acqua, o per la cottura, sono la principale fonte di inquinamento dell'aria indoor. In molti paesi in via di sviluppo, la combustione a carbone o a biomassa produce concentrazioni di particolato, di ossidi di zolfo, di ossidi di ozono e/o di ossido di carbonio molto più alte delle concentrazioni che si trovano all'aperto. In molte aree rurali, dove è basso l'inquinamento ambientale, l'uso di combustibili a biomassa in case non ventilate, porta a concentrazioni di inquinanti anche molto maggiori di quelle delle città più inquinante. Questo tipo di esposizione interessa le donne ed i bambini molto di più degli uomini, poiché i primi passano maggior tempo al chiuso (Chen *et al.*, 1990). Sono state identificate molte altre fonti di inquinamento dell'aria, come i materiali da costruzione (radon) e il suolo, il legno truciolare e certe forme di pareti isolanti (formaldeide), il fumo di tabacco, gli animali da compagnia, i funghi e gli acari della polvere (allergeni).

Nella misurazione dell'inquinamento indoor si dovrebbe tenere conto anche dei metodi e dei sistemi di ventilazione, poiché il tasso di ventilazione può essere un fattore determinante. In assenza di fonti interne di inquinamento, un basso tasso di ventilazione (basso scambio fra aria indoor e outdoor) comporta in genere basse concentrazioni di inquinanti indoor, a causa del "decadimento" dell'inquinamento ambientale nel passaggio da esterno a interno. Se, invece, sono presenti fonti di inquinamento indoor, un basso tasso di ventilazione aumenterà i livelli delle concentrazioni, poiché meno inquinamento indoor verrà trasferito dall'interno all'esterno.

La valutazione dell'esposizione può essere complicata anche dalla presenza di più di una stanza nella abitazione e dal variare delle concentrazioni fra le stanze in modo considerevole. La presenza o meno di fonti di inquinamento non ventilate, le differenze nella ventilazione e nella collocazione rispetto alle fonti locali di inquinamento outdoor, come le strade, sono alcuni dei fattori che possono contribuire a tale variazione. In questi casi, per poter fare una valutazione complessiva dell'esposizione, si devono raccogliere informazioni sulle concentrazioni di inquinanti e/o sulle fonti di inquinamento presenti nelle diverse stanze e sulla durata della permanenza in esse delle persone.

Infine, l'esposizione a contaminanti dell'aria può variare per fattori fisiologici, come la taglia corporea, il tasso di metabolismo e l'attività fisica, ognuno dei quali influenza la quantità di aria che viene inalata. Essa varia da meno di 10m<sup>3</sup> a più di 30m<sup>3</sup> per persona al giorno. I volumi al minuto di aria inalata possono variare da meno di 10 l/m durante il riposo a oltre 80 l/m durante l'esercizio pesante. La Tabella 4.2 è tratta dal Reference Man (ICRP, 1975) e illustra la correlazione fra volume respiratorio, età e carico di lavoro. Questi dati fisiologici di base sono di grande valore quando si devono calcolare stime per età, per genere e per gruppo etnico.

**Tabella 4.2 Tassi specifici di ventilazione polmonare a diversi livelli di attività in funzione dell'età**

Soggetto	Peso (Kg)	Tasso di ventilazione (l/min)		
		Riposo	Attività lieve	Lavoro pesante
Maschio adulto	68.5	7.4	29	43
Femmina adulta	54	4.5	16	25
Maschio adolescente (14-16 anni)	59.4	5.2		
Femmina adolescente	56	4.5		
Ragazzo (10-11 anni)	36.5	4.8	14	
Bambino (1 anno)		1.4		
Neonato	2.5	0.5		

Fonte: adattato da ICRP, 1975

La Tabella 4.3 riassume i parametri da considerare quando si misura l'esposizione a contaminanti aerodispersi.

**Tabella 4.3 Contaminanti aerodispersi - parametri di calcolo dell'esposizione**

1.	Concentrazioni (es. $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
a.	microambienti
b.	personale
2.	Scenari di esposizione
a.	intensità delle concentrazioni "episodiche" rispetto ai livelli normali (medi)
b.	frequenza e durata del contatto
3.	Trasporto
a.	dispersione e avvezione
b.	altri tassi di rimozione meteorologici (diluizione, ricaduta)
c.	tassi di ventilazione e rimozione indoor
4.	Chimica
a.	tassi di formazione
b.	tassi di trasformazione
5.	Tassi di deposizione ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )
a.	ambiente
b.	polmone
6.	Contatto
a.	inalazione (in rapporto al tipo di esercizio fisico)
b.	deposizione e permeabilità cutanea
c.	ingestione (es. attraverso gli alimenti o in seguito a deposizione al suolo)

Fonte: adattato da Lioy, 1990.

### Acqua

L'inquinamento dell'acqua è un problema serio in molte parti del mondo, indipendentemente dal livello economico di sviluppo (Yassi *et al.*, 1998). La via principale di esposizione è l'acqua potabile contaminata. La maggior parte dell'acqua potabile è ottenuta da acque profonde o superficiali e può essere contaminata da agenti biologici, chimici e fisici. L'inquinamento biologico è spesso quello più importante, soprattutto in paesi meno sviluppati e in aree rurali. Secondo il Programma di azione delle Nazioni Unite successivo alla Conferenza di Rio del 1992, si stima che l'80% di tutte le malattie ed oltre un terzo delle morti nei paesi in via di sviluppo siano causate dal consumo di acqua contaminata (UN, 1993). La malattia diarroica dovuta a inquinamento fecale dell'acqua è diffusa ed è una delle cause principali di morti infantili. Gli inquinanti chimici dell'acqua comprendono nitrati e nitriti, pesticidi, composti organici volatili, metalli pesanti come arsenico e piombo e, in minor misura, mercurio, cadmio e altri metalli (WHO, 1997).

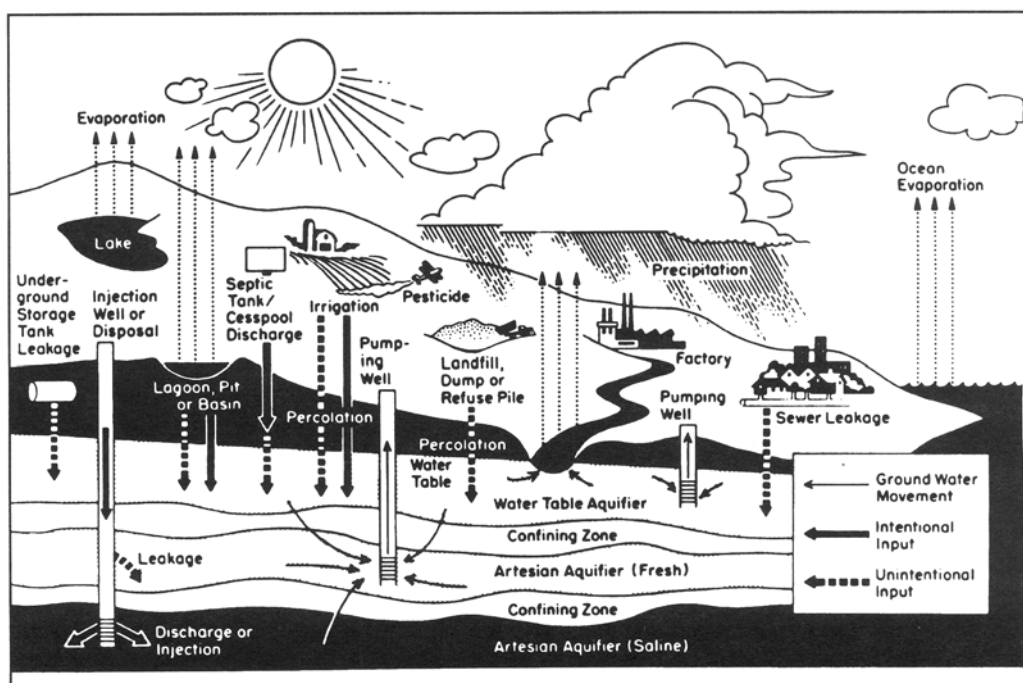
Per gli inquinanti dell'acqua potabile il periodo di induzione può essere breve, nel caso di agenti infettivi, o lungo, se sono coinvolte sostanze come i cancerogeni. Lo studio di John Snow sull'incidenza del colera a Londra fu uno studio epidemiologico esemplare sull'esposizione a contaminanti idrici. John Snow mostrò che il rischio di colera a Londra era correlato, fra l'altro, al consumo di acqua fornita da una particolare compagnia. La valutazione dell'esposizione fu relativamente semplice a causa del fatto che molte persone si approvvigionavano da poche pompe.

La durata del periodo di esposizione può essere condizionato dalla ritenzione degli inquinanti nelle matrici ambientali. Nel caso delle acque sotterranee, il turnover può essere estremamente lento -

spesso dell'ordine di centinaia o migliaia di anni - cosicché l'acqua rimane contaminata per un lungo periodo di tempo. Nel caso delle acque superficiali, gli inquinanti si accumulano spesso nei sedimenti e sono rilasciati lentamente. Il risultato è che la contaminazione continua a lungo anche dopo che la fonte inquinante originaria è stata rimossa.

In molti paesi sviluppati, almeno nelle aree residenziali, l'acqua potabile è condotta direttamente nelle case. In molti paesi a minor sviluppo, invece, gran parte della popolazione riceve la sua acqua potabile da pozzi o fonti. Si deve tener conto di queste circostanze quando si valuta l'esposizione a contaminanti presenti nell'acqua potabile. Spesso essa viene fornita da fonti sotterranee, e la loro contaminazione dovrebbe essere studiata particolarmente. La Figura 4.5 illustra le differenti vie attraverso cui le acque profonde possono venire contaminate (Coniglio *et al.*, 1992).

**Figura 4.5 Vie di contaminazione delle acque sotterranee**



Fonte: Coniglio *et al.*, 1992

La contaminazione dell'acqua potabile può avvenire per varie ragioni. La materia prima può non essere stata adeguatamente purificata, o il processo di purificazione (la clorazione, ad esempio) può avere introdotto inquinanti come il cloroformio. I materiali delle condutture possono essere altresì una fonte di contaminazione. In molti paesi nel passato per le tubazioni dell'acqua è stato usato il piombo. Se questo tipo di conduttura è ancora in uso e vi passa un'acqua acida, può rilasciare una grande quantità di piombo. La concentrazione di piombo dipende dalla durata del tempo di contatto dell'acqua con la superficie della tubazione, pertanto all'inizio dell'emungimento l'acqua avrà una concentrazione di piombo molto più alta che successivamente. Numerosi inquinanti possono raggiungere le acque condottate se le tubazioni sono fessurate o permeabili ad essi.

Inquinanti come i sottoprodotti della clorazione, che sono aggiunti o che si formano dopo che l'acqua ha lasciato la stazione di pompaggio, sono più difficili da monitorare rispetto agli inquinanti presenti nelle fonti idriche primarie. Quando si valuta l'esposizione, la concentrazione degli inquinanti nell'acqua dovrebbe essere stimata o misurata al momento in cui esce dall'acquedotto. Diversamente, nel caso di consumo diretto di acqua superficiale, profonda o da pozzo, la valutazione dell'esposizione dovrà riguardare la fonte stessa e la concentrazione di contaminanti.

L'esposizione a contaminanti idrici può avvenire anche quando si preparano cibi usando acqua contaminata o attraverso assorbimento cutaneo nel corso di attività quali il nuoto, la doccia, il bagno e il

cucinare. I contaminanti si possono volatilizzare durante queste operazioni ed essere conseguentemente inalati.

Variazioni fisiologiche e nelle abitudini personali fra gli individui possono altresì modificare l'esposizione a contaminanti idrici. Ad esempio il consumo di acqua potabile varia in genere da 1 a 2 litri al giorno per persona, e si può trattare di acqua da acquedotto, di acqua imbottigliata o di una combinazione fra le due. Devono quindi essere raccolte informazioni sufficientemente dettagliate quando si valuta l'esposizione a inquinanti attraverso l'acqua potabile. Intervistare i soggetti è uno dei modi con cui si può raggiungere questo obiettivo.

La Tabella 4.4 riassume i parametri da considerare per misurare l'esposizione a contaminanti idrici.

**Tabella 4.4 Contaminanti idrici - parametri per il calcolo dell'esposizione**

1.	Concentrazione ( $\mu\text{g/L}$ )
a.	Acqua da acquedotto
b.	Usi dell'acqua
c.	Scarichi - industriali, commerciali, residenziali, sversamenti incontrollati
2.	Modalità di esposizione
a.	Ingestione
b.	Cottura
c.	Bagno o doccia
d.	Nuoto
e.	Lavaggio
3.	Solubilità e volatilità dei contaminanti
4.	Trasporto
a.	Acque sotterranee
b.	Acque superficiali
c.	Forniture domestiche
5.	Chimica
a.	Tassi di formazione
b.	Tassi di trasformazione
c.	Degradazione
6.	Biologia (per rischi biologici)
a.	Dose infettante o virulenza
b.	Sopravvivenza dell'organismo in acqua
7.	Tassi di contatto ( $\mu\text{g/L}/\text{tempo}$ ) per via di esposizione
a.	Ingestione
b.	Cute
c.	Inalazione (dopo volatilizzazione)
8.	Assorbimento
a.	Tratto gastrointestinale
b.	Deposizione e permeabilità cutanea

*Fonte: adattato da Liroy, 1990*

## **Suolo**

Il suolo può essere contaminato da un ampio spettro di inquinanti chimici, che comprende i pesticidi e i metalli pesanti, come piombo o cadmio. Le attività agricole, l'industria, le emissioni da discarica e vei-

colari sono tutte importanti fonti di inquinamento del suolo. Si possono avere anche concentrazioni naturali di alcune sostanze chimiche tossiche, così come di agenti biologici dannosi, quali gli elminti. L'esposizione diretta a inquinanti del suolo avviene se le particelle di suolo sono ingerite o inalate. L'ingestione può avvenire quando le particelle di suolo che aderiscono alle colture alimentari non sono totalmente rimosse, prima del consumo. Nei bambini piccoli, il comportamento di "portare alla bocca", che spesso manifestano fra uno e quattro anni di età, può far ingerire inquinanti. In bambini normali, la quantità di suolo o polvere ingerita in questo modo si aggira fra 50 e 100 mg al giorno (Calabrese *et al.*, 1989; Wijnen *et al.*, 1990). (La tendenza a ingerire oggetti non commestibili è nota come "picacismo"). Ne risulta che i bambini possono essere a rischio se vivono e giocano in un ambiente inquinato. Possono anche essere esposti ad agenti infettanti attraverso la polvere.

L'esposizione indiretta al suolo inquinato può avvenire se i contaminanti sono rilasciati in aria, sollevati dalle coltivazioni e dagli allevamenti o rilasciati nelle riserve di acqua potabile o nelle acque superficiali. Molti inquinanti possono rimanere legati alle particelle del suolo per un considerevole periodo di tempo. Tuttavia possono venire rilasciati gradualmente dal terreno nelle acque profonde o superficiali. Altri sono captati dalle piante e possono entrare nella catena alimentare. Predire il destino ambientale dei contaminanti del suolo è un processo complesso che richiede, in genere, di effettuare misurazioni per ciascun percorso ambientale rilevante.

La Tabella 4.5 riassume i parametri da considerare per misurare l'esposizione a contaminanti del suolo.

**Tabella 4.5 Parametri per il calcolo dell'esposizione a contaminanti del suolo e nelle polveri**

- 
- |    |  |
|----|--|
| 1. | Concentrazioni ( $\mu\text{g/g}$ )   |
| a. | Polvere - outdoor, indoor  |
| b. | Deposizione aerea, risospensione in aria, scariche, sversamenti incontrollati                |
| 2. | Biologia (per fattori di rischio biologici)  |
| a. | Dose infettante o virulenza  |
| b. | Sopravvivenza dell'organismo nel suolo e nella polvere                                       |
| 3. | Scenari di esposizione   |
| a. | Frequenza e durata   |
| b. | Intensità del contatto   |
| 4. | Tasso di percolazione  |
| a. | Composizione del suolo   |
| b. | Falda acquifera  |
| c. | Solubilità   |
| d. | Trasporto  |
| 5. | Volatilizzazione   |
| a. | Contaminanti   |
| b. | Composizione del suolo   |
| c. | Strato superficiale del terreno e copertura  |
| 6. | Tasso di contatto per via di introduzione  |
| a. | Tratto gastrointestinale - popolazione normale, comportamento alimentare anomalo (picacismo) |
| b. | Deposizione e permeabilità cutanea   |
| c. | Polmoni  |
- 

Fonte: adattato da Liroy, 1990.

## **Alimenti**

La contaminazione delle derrate alimentari può essere il risultato della deposizione degli inquinanti dall'atmosfera, dell'irrigazione con acque inquinate, dell'applicazione di pesticidi e altre sostanze alle coltivazioni o negli allevamenti animali, della contaminazione durante la trasformazione e la distribuzione. In quest'ultimo caso l'interesse prevalente è verso la contaminazione da agenti biologici. La contaminazione biologica degli alimenti è una delle principali cause di diarrea, ed è in parte dovuta all'utilizzo di acqua inquinata durante la preparazione, come sopra ricordato (WHO, 1993a; UN, 1993). Inoltre, come descritto nel Capitolo 1, metalli quali mercurio e cadmio hanno dato luogo a importanti episodi di avvelenamento; ricordiamo le malattie di Minamata e Itai-Itai (WHO; 1990, 1992a, 1992c).

La valutazione dell'esposizione ad alimenti contaminati deve prendere in esame tutte le potenziali fonti di esposizione. Ad esempio, anche quando gli alimenti e l'acqua locali sono idonei igienicamente, le persone possono consumare prodotti contaminati se li acquisiscono altrove. I "cibi pronti" possono essere un'insieme di alimenti provenienti da varie fonti. Se sono cotti, i contaminanti tossici possono essere stati eliminati con la cottura, oppure concentrarsi o anche aggiungersi al cibo.

La valutazione dell'esposizione a contaminanti negli alimenti e nell'acqua deve considerare anche le abitudini individuali nella preparazione del cibo e nella scelta dei vari alimenti e bevande. In pratica, tuttavia, dati affidabili e rappresentativi sono difficili da ottenere, in particolare se la popolazione ha una dieta eterogenea, se le unità familiari non sono molto uniformi, o se lo stesso elemento è distribuito in molte voci della dieta. Nella popolazione, i fattori che maggiormente influenzano la scelta di alimenti e bevande sono le abitudini culturali e la disponibilità. L'esposizione totale dipende dalla concentrazione, quantità, frequenza del consumo e durata (Willet, 1990). Il termine "introduzione giornaliera" (daily intake) è spesso usato al posto del termine esposizione, nel caso degli alimenti.

Per valutare l'esposizione che avviene attraverso gli alimenti possono essere usati approcci diversi. Per studiare l'ingestione complessiva di elementi tossici, devono essere acquisite informazioni circa il tipo e la quantità di alimenti e bevande che sono consumati e che sono rappresentativi dei consumi nazionali o di sottogruppi di popolazione. Per lo studio delle assunzioni alimentari l'OMS ha elaborato delle linee guida (1985).

Nella valutazione dell'esposizione per via alimentare va rivolta particolare attenzione a tre gruppi di consumatori:

- soggetti (come bambini o anziani) con tipologie di consumo che differiscono da quelle della media degli adulti;
- soggetti con un metabolismo che differisce da quello adulto (come i bambini nel primo anno di vita, che assorbono il piombo dal tratto gastroenterico ad un tasso più alto degli adulti);
- soggetti esposti ad una concentrazione di sostanze tossiche nella dieta che supera la media (come i pescatori di tonno la cui dieta prevalente è a base di tonno stesso che sono conseguentemente esposti ad alti livelli di metilmercurio).

La Tabella 4.6 riassume i parametri da considerare per misurare l'esposizione a contaminanti nei cibi.



**Tabella 4.6 Parametri per calcolare l'esposizione a contaminanti alimentari**

- 
1. Fonti di contaminazione
    - a. Contaminanti presenti in natura
    - b. Deposizione aerea
    - c. Fornitura idrica
    - d. Fertilizzanti e pesticidi
    - e. Discariche
    - f. Tecniche di preparazione e cottura
  2. Biologia (per rischi biologici)
    - a. Dose infettante e virulenza
    - b. Sopravvivenza degli organismi
    - c. Tossine naturali
  3. Concentrazioni ( $\mu\text{g/g}$ )
    - a. Piante, vegetali e frutta
    - b. Latte
    - c. Bevande e alimenti a base acquosa
    - d. Alimenti cotti
  4. Modelli di esposizione
    - a. Tasso
    - b. Frequenza
    - c. Origine degli alimenti - casalinga, commerciale, di fattoria, processati
  5. Tasso di contatto
    - a. Gastrointestinale
    - b. Inalazione (solo durante la cottura)
  6. Assorbimento dal tratto gastrointestinale
- 

*Fonte: adattato da Lioy, 1990*

## **Agenti fisici - Rumore e radiazioni**

### **Rumore**

Nelle società altamente industrializzate, il rumore è presente quasi ovunque. Le fonti principali sono il traffico stradale ed aereo, i cantieri edili, l'industria e la folla. Il rumore è particolarmente diffuso nei settori della produzione, dei trasporti, delle costruzioni e minerario. Può essere elevato anche in alcune attività agricole. L'esposizione non occupazionale al rumore è più estesa nelle aree urbane rispetto a quelle rurali, anche se le grandi arterie di traffico e gli aeroporti possono contribuire in modo considerevole all'esposizione al rumore delle comunità rurali. L'esposizione a rumore può avvenire anche durante le attività ricreative (come la caccia, il motociclismo) e nei luoghi pubblici come la discoteca.

Negli studi epidemiologici, dovrebbe essere valutata l'esposizione globale al rumore di ciascun giorno. Per quantificare l'esposizione al rumore si usano fonometri, misuratori del rumore impulsivo e dosimetri personali. Tutte le misurazioni e la preventiva calibrazione devono seguire standard riconosciuti, quali quelli dell'International Organization for Standardization (ISO). Parametri fondamentali sono la frequenza e la durata. Alcuni strumenti li misurano direttamente, come nel caso di reti di fonometri che "pesano" le frequenze; in altri si calcolano sulla base della conoscenza degli andamenti temporali. Per ottenere una storia completa del rumore, registratori possono essere installati in un sito (ambiente di lavoro e comunità) e la registrazione può essere poi analizzata in laboratorio.

Il rumore ambientale è complesso (Rylander, 1992). Sono stati sviluppati metodi diversi per calcolarne la media, come il livello di inquinamento sonoro, il livello medio diurno e notturno e il **livello sonoro equivalente (Leq)** in periodi diversi del giorno (Yassi *et al.*, 1998). Tutte queste tecniche includono la misura pesata delle varie frequenze. Nonostante ciò, il livello sonoro medio può essere di difficile interpretazione, visto che pochi eventi di livello sonoro elevato possono avere la stessa media di molti eventi di livello basso. Il rumore può anche essere caratterizzato dal picco (o livello più alto), oppure può venire descritto statisticamente come tempo in cui si oltrepassa un livello dato (ad esempio, L10 può significare che per il 10% del tempo in esame è stato superato il livello sonoro). In studi sugli effetti del rumore prodotto da aeroplani, possono essere calcolati i contorni lineari dei livelli sonori delle aree intorno a un aeroporto. L'esposizione della popolazione generale può essere conseguentemente espressa in termini di posizione delle case (e comunità) in una mappa di curve di livello.

Non c'è una forte evidenza documentata in merito alla capacità del rumore ambientale di causare un danno acustico a lungo termine (Yassi *et al.*, 1998). Tuttavia, il rumore è importante da considerare perché può arrecare disturbo, che può essere specifico, come quando la conversazione viene interrotta dal passaggio di un aereo, oppure anche non specifico, producendo una sensazione generale di fastidio, scontentezza o anche paura. E' importante, quindi, misurare la qualità del rumore e la sua percezione, tramite, ad esempio, l'uso di questionari o di diari personali, in aggiunta alle misurazioni oggettive della frequenza e dell'intensità sonora.

#### **Radiazioni ionizzanti**

Le radiazioni ionizzanti sono sia elettromagnetiche (come raggi X e raggi  $\gamma$ ) che corpuscolari (come particelle  $\alpha$  e  $\beta$ ), e sono emesse da elementi radioattivi (radionuclidi) (ICRU, 1980). L'esposizione può avvenire in numerosi contesti: domestico, occupazionale, locale o regionale. Numerosi radionuclidi sono di origine naturale e quindi sono sempre presenti nell'ambiente. Insieme al contributo delle radiazioni cosmiche, costituiscono il background radioattivo. Il fondo radioattivo varia secondo l'altitudine e la longitudine. Altri radionuclidi sono di fonte antropica, come quelli derivati dalla fissione a scopo energetico. Per valutare l'esposizione globale alle radiazioni ionizzanti è richiesta quindi l'analisi delle radiazioni prodotte da varie fonti.

Un radionuclide si caratterizza innanzitutto per le sue proprietà chimiche, secondariamente per la forma fisica o fisicochimica in cui si trova, e quindi per il suo comportamento nelle matrici biologiche (soprattutto per il suo metabolismo). Un radionuclide possiede anche caratteristiche nucleari particolari, precisamente il tempo di dimezzamento (ossia il tempo necessario per il decadimento della metà degli atomi presenti), e la natura e l'energia della radiazione emessa.

Il corpo umano con i suoi organi e tessuti, può essere esposto ai radionuclidi esternamente o internamente. L'**esposizione esterna** può avvenire quando i radionuclidi sono presenti in matrici esterne al corpo ed entrano in esso attraverso queste sorgenti (questa definizione è simile a quella usata nel Capitolo 2 e altrove nel testo, ed è di uso comune quando si misura l'esposizione a radiazioni), ad esempio, quando le radiazioni si propagano direttamente da una fonte quale una centrale nucleare. Questo tipo di esposizione è quasi esclusivamente occupazionale. L'esposizione esterna deriva anche dall'uso diagnostico terapeutico di raggi X (soprattutto raggi X e raggi  $\gamma$ ) e da fonti come certi orologi luminosi. I raggi X e raggi  $\gamma$  possono raggiungere i tessuti situati a una certa distanza dal punto di emissione.

L'**esposizione interna** - che riguarda i raggi  $\gamma$  penetranti o le particelle  $\alpha$  e  $\beta$  molto meno penetranti - avviene quando i radionuclidi sono assorbiti per inalazione o ingestione (questa definizione è simile a quella usata altrove nel testo per la dose assorbita o interna, ma è anche di uso comune quando si misura l'esposizione a radiazioni). L'esposizione interna, ad esempio, può accadere dopo inalazione di polvere contaminata con prodotti di decadimento del radon (che possono a loro volta decadere, rilasciando particelle  $\alpha$ ). Dopo l'assunzione, i radionuclidi possono rimanere nell'organo dove sono stati assorbiti (ad esempio nei polmoni in caso di inalazione di polvere contaminata) o possono distribuirsi nell'organismo.

Distinguere i due tipi di esposizione è essenziale poiché a ciascuno si applicano metodi di misura diversi. L'esposizione che ha prodotto un danno tissutale si valuta tramite la misurazione dell'energia assorbita dal tessuto, tenendo conto del tipo di radiazione. Questa misura si chiama "dose equivalente" ed è stata in passato espressa in "rem", poi sostituita nel 1975 da joule per chilogrammo ( $1 \text{ rem} = 10^{-2} \text{ J/Kg}$ ). In seguito il sievert ( $1 \text{ rem} = 10 \text{ mSv}$ ) è divenuto il termine più comunemente usato. Nel caso della esposizione esterna, si possono usare attrezzature sensibili ed evolute, come le camere a ionizzazione, i contatori a scintillazione e i dosimetri termoluminescenti e fotoluminescenti, per misurare la massima dose equivalente ricevuta dall'organismo direttamente dalla fonte radioattiva. In alternativa i soggetti possono essere dotati di campionatori personali a lettura diretta.

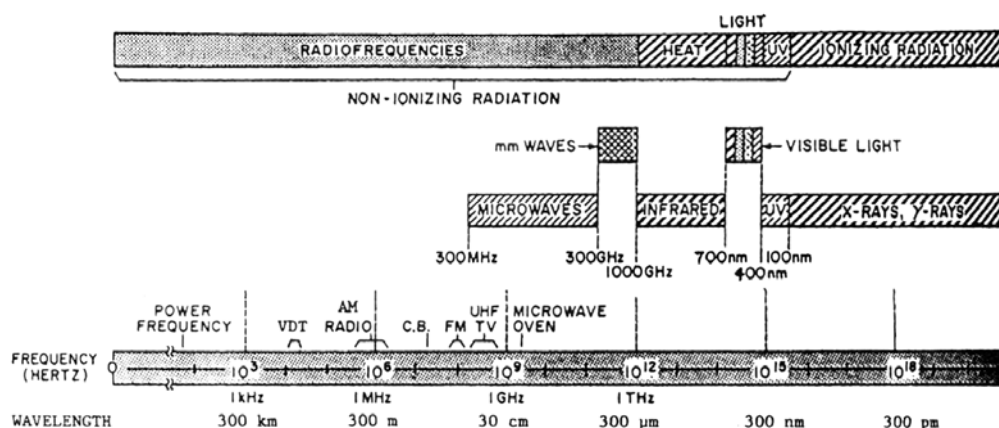
Per le esposizioni interne le dosi equivalenti non possono essere misurate direttamente dal momento che la fonte è dentro l'organismo. L'esposizione viene pertanto studiata valutando la radioattività dei materiali introdotti nell'organismo, quali l'aria, l'acqua potabile e le derrate. Per calcolare i livelli di tale radioattività sono disponibili molti metodi altamente sensibili ed accurati. Un esempio è il rivelatore di particelle  $\alpha$  usato per misurare il gas radon e la concentrazione nell'aria indoor (o le particelle  $\alpha$  generate quando il radon decade). La concentrazione di radon in aria viene usata come indicatore di esposizione interna da inalazione.

### Radiazioni non-ionizzanti

Le radiazioni non ionizzanti si riferiscono a tutte le radiazioni dello spettro elettromagnetico con l'esclusione delle ionizzanti (Shore, 1998) (vedere la figura 4.6.). Sono comprese le diverse forme di radiazioni del visibile, le microonde e le onde radio, che fanno parte del fondo radioattivo naturale dell'atmosfera, a cui tutti gli esseri viventi sono esposti in grado variabile. Il progresso tecnologico e le fonti elettroniche hanno innalzato gradatamente i livelli ambientali di radiazioni non-ionizzati. L'impatto sanitario di queste esposizioni è legato alle caratteristiche fisiche delle radiazioni, alle condizioni e alla durata dell'esposizione, e alle caratteristiche fisiche del soggetto a rischio.

La radiazione luminosa include le lunghezze d'onda dello spettro elettromagnetico corrispondenti all'ultravioletto, il visibile e l'infrarosso. Tutte si trovano in proporzione varia nella luce solare. Anche numerosi processi possono emettere queste lunghezze d'onda; nei dispositivi laser le emissioni sono paragonabili a fasci di luce monocromatici.

**Figura 4.6 Spettro elettromagnetico secondo la frequenza, la lunghezza d'onda e gli usi**



Fonte: Shore, 1998; adattato da Petersen, 1983

L'esposizione a radiazioni non-ionizzanti si misura come energia radiante. Inoltre, per valutare l'andamento temporale e le variazioni nell'esposizione, è necessario studiare anche intensità e durata dell'esposizione. Una stima può essere fatta combinando i dati meteorologici con le abitudini precise delle persone (raccolte tramite intervista) relativamente all'esposizione al sole, all'uso di solarium, al giardinaggio ecc. Deve essere considerata anche la suscettibilità individuale agli effetti dei raggi ultravioletti - che è maggiore nelle razze chiare rispetto alle razze di pelle scura. Nel Box 4.4 si trova un esempio dell'utilizzo di questo approccio nello studio della cataratta oculare (l'OMS ha pubblica-

to una rassegna sulla radiazione ultravioletta, che tratta molti degli aspetti di questo paragrafo) (WHO, 1994b).

Gli apparecchi elettronici sono le principali fonti di microonde (MW) e di onde radio (RF).

Le radiazioni elettromagnetiche sono diffuse in tutto il mondo tramite l'uso di radar, tecniche di riscaldamento, telecomunicazioni e sistemi a banda larga. L'esposizione a campi MW/RF si studia generalmente misurando la densità di potenza media sotto specifiche condizioni. Per alcune fonti, come il radar, occorre misurare anche il picco di densità di potenza. La dosimetria è complessa e deve ancora essere raggiunta una standardizzazione internazionale delle tecniche di misura.

#### **Box 4.4 Uso dell'approccio esposizione negli studi sulla cataratta oculare da radiazioni solari**

Per esplorare il range dei valori dose attesi, durante il 1994 l'US Army Environmental Hygiene Agency (US EHA) condusse un programma di studi, sulla base di una precedente valutazione della esposizione umana a UVR solari, maturata durante il 1972-1994. A questo scopo, furono eseguite misurazioni ambientali degli UVR insieme a quelle della luminanza (nota anche come brillantezza) e dell'ammicciamento. Ulteriori esperimenti utilizzarono un manichino per simulare la geometria oculare alla luce solare per due scenari: con e senza occhiali da sole. Fu misurato l'ammicciamento dei soggetti in diverse condizioni ambientali esterne. Fu quindi derivata un'equazione per stimare la reale esposizione oculare a UVR della luce solare, in funzione della luminanza del cielo, del riflesso del terreno e delle condizioni del cielo. Una serie di studi furono condotti relativamente ai seguenti aspetti: misurazione dell'ultravioletto ambientale; ammicciamento; dosimetria su manichino.

*Fonte: Sliney, 1995*

Lo studio dell'esposizione a fattori fisici richiede la conoscenza delle loro proprietà intrinseche e del loro comportamento nelle matrici ambientali. Il rumore, o suono, ad esempio, è onda di energia trasmessa attraverso l'aria. Non c'è suono nel vuoto. Diversamente i raggi X e la luce ultravioletta, ad esempio, si trasmettono nel vuoto. Come ulteriore esempio, la radiazione  $\alpha$  da decadimento del radon in aria non produce sostanzialmente alcun rischio poiché non riesce a penetrare lo strato esterno della pelle. Tuttavia, i prodotti di decadimento del radon possono adsorbirsi alle particelle di polvere ed essere inalati nel polmone, provocando il tumore polmonare da esposizione diretta del tessuto respiratorio alle radiazioni  $\alpha$ . Pertanto l'ammontare di particolato in aria è in grado di influenzare la dose ultima assorbita di radiazioni  $\alpha$  da radon.

### **4.3 Tecniche di misura dell'esposizione**

Misurare accuratamente e con precisione l'esposizione è chiaramente di grande importanza quando si vogliono definire delle associazioni con effetti sanitari. Tuttavia è spesso impossibile valutare esattamente in che misura un'esposizione raggiunge l'organo target dell'uomo. Le tecniche di monitoraggio biologico forniscono una buona stima della dose, ma spesso non sono praticabili, o disponibili relativamente agli inquinanti ambientali. In certi casi, i livelli di esposizione individuale possono essere studiati utilizzando campionatori personali. Tuttavia è raramente possibile avere queste informazioni per un numero sufficiente di individui, poiché la spesa necessaria sarebbe considerevole. E' inoltre spesso difficile garantire la collaborazione delle persone per monitoraggi personali di lungo periodo. In pratica, quindi, le variabili dell'esposizione che si usano sono in genere approssimazioni o **surrogati** dell'esposizione reale. Purtroppo da una variabile surrogata a un'altra possono variare molto l'accuratezza e la precisione con cui l'esposizione viene approssimata. La Tabella 4.7 mostra una lista gerarchica di dati utilizzabili per misurare l'esposizione a una fonte ambientale fissa. L'esempio non vuole suggerire, comunque, che è sempre preferibile misurare la variabile "più in alto" nella scala gerarchica (quella più accurata e precisa). La scelta delle variabili dipenderà da molti fattori, compresi i costi e la fattibilità. Uno schema simile per l'analisi dei rischi potenziali è quello del DPSEA, descritto nel paragrafo 1.3 ed illustrato nella Figura 1.4 (Kjellstrom & Corvalàn, 1995).

**Tabella 4.7 Gerarchia dei dati di esposizione e loro surrogati per una fonte inquinante fissa**

Tipologia dei dati	Approssimazione della esposizione reale
1. Misurazioni personali quantitative	Migliore
2. Misurazioni quantitative dell'area in vicinanza della residenza o luogo dove si svolge l'attività umana	
3. Misurazioni quantitative di surrogati di esposizione (ad esempio stime del consumo di acqua potabile)	
4. Distanza dal sito e durata della residenza	
5. Distanza o durata della residenza	
6. Residenza o lavoro entro un'area geografica ragionevolmente vicina alla probabile fonte di esposizione	
7. Residenza o lavoro in una area geografica definita (es. una provincia) che include anche la fonte inquinante	Peggiora

Fonte: adattata da NRC, 1991 a.

Non si possono fornire linee guida universali sulla scelta delle tecniche di misura da applicare in un dato studio. La scelta finale sarà il risultato di un processo che prende in considerazione:

- validità;
- costi;
- esperienza;
- disponibilità di strumenti di misura;
- dotazioni di laboratorio.

La disponibilità di risorse, in particolare, varia da paese a paese e spesso all'interno degli stessi. Ciò detto, deve essere eseguita prioritariamente la valutazione della validità e riproducibilità delle tecniche di misura dell'esposizione disponibili, per decidere se uno studio è in grado di produrre risultati validi. In fase di pianificazione dello studio si rende necessaria, in genere, la valutazione della qualità e della disponibilità dei dati di esposizione, allo scopo di decidere se lo studio è davvero fattibile.

### Questionari

I questionari sono una fonte importante di informazioni nello studio dell'esposizione. Essi hanno principalmente il compito di fornire informazioni utili ad orientare le misure dell'esposizione, e a collegare gli individui alle misure ambientali, quando non è possibile eseguire campionamenti personali. I singoli soggetti possono riferire di esposizioni potenziali nell'abitazione o nel quartiere. Queste informazioni possono successivamente guidare gli epidemiologi quando avviano le misure di esposizione. I soggetti possono anche riportare sul questionario i loro sintomi, e questi possono guidare i campionamenti ambientali. Possono ad esempio riferire che i sintomi peggiorano in una particolare area di un edificio, o in un parco vicino al canale di scarico dei rifiuti. Misurazioni ambientali potranno così essere eseguite in questi luoghi.

Un uso importante dei questionari o dei diari viene fatto per definire la proporzione di tempo che una persona trascorre al chiuso a casa, a scuola, al lavoro, o in altre sedi. Questa informazione può essere usata per calcolare l'esposizione totale, nel caso che si abbiano misurazioni ambientali per ciascuna sede (vedere il paragrafo sui microambienti).

I questionari possono venire usati come la fonte primaria di informazione sull'esposizione, qualora le misurazioni dirette, personali o ambientali, siano troppo costose o complesse. Come già descritto, un questionario può rappresentare, ad esempio, il mezzo più facile per ottenere informazioni sul consumo individuale di cibo e di acqua. Questionari si usano anche per raccogliere informazioni da usare come surrogati dell'esposizione. Alcuni studi, ad esempio, hanno mostrato che risposte a domande

sulla presenza di cucine a gas o elettriche nell'abitazione si correlano con le misure indoor di biossido di azoto (NO<sub>2</sub>) (vedi Tabella 4.8).

**Tabella 4.8 Relazione fra utilizzo di apparecchi di cottura a gas o elettrici e concentrazione settimanale media di NO<sub>2</sub>**

Apparecchi di cottura	Concentrazione media di NO <sub>2</sub> in µg/m <sup>3</sup> (in parentesi deviazione standard.)	
	Cucina	Altra stanza
Cucine a gas	92.3 (43.4)	46.8 (30.5)
Cucine elettriche	15.6 (9.4)	12.8 (6.0)

*Fonte: adattata da Palmes et al., 1977*

Ugualmente, domande sulla presenza di un genitore (o governante) fumatore di sigarette sono risultate predittive dell'esposizione ambientale a fumo di tabacco nei bambini, sulla base delle concentrazioni di cotinina urinaria o salivare. Un ulteriore esempio riguarda la segnalazione nei questionari di odori, come possibile indicazione di concentrazioni di esposizione sopra o sotto la soglia olfattiva (studi sperimentali hanno stabilito che le persone tendono a riferire odori da sostanze chimiche a concentrazioni abbastanza concordanti). Altro esempio comune di surrogato di esposizione ottenuto da questionario è la residenza del soggetto in una area e la sua durata nel tempo.

Infine, i questionari possono essere usati per avere informazioni circa i fattori modificanti l'effetto potenziale di una esposizione sulla salute. L'informazione circa le abitudini personali relativamente al consumo di tabacco e di alcool è importante in molti studi di epidemiologia ambientale. Le tipologie di lavoro e di attività, ad esempio, che possono essere riferite in un questionario, influenzano l'esposizione e la dose, come illustrato nelle Tabelle 4.1 e 4.2.

I questionari sono somministrati generalmente in un momento preciso o ad intervalli di tempo abbastanza lunghi nel corso dello studio e quindi possono insorgere problemi di memoria dei soggetti nel ricordare dettagliate informazioni. Un sistema per affrontare questo problema è di far tenere un **diario** delle informazioni rilevanti. Un diario ha in genere piccole dimensioni e può essere tenuto dal soggetto per registrare le informazioni per ogni intervallo definito di tempo: giornaliero o anche più breve, come ogni 15 minuti. L'uso del diario è importante soprattutto per registrare gli andamenti temporali di attività, il consumo di alimenti e bevande ed eventi sanitari come i sintomi.

### **Indicatori biologici**

Il ruolo degli indicatori biologici negli studi epidemiologici è discusso nel Capitolo 2. Nel presente Capitolo, che tratta la valutazione dell'esposizione, ci focalizzeremo sugli indicatori di dose interna e di dose biologica efficace (che sono comunemente chiamati bioindicatori di esposizione) (Griffith *et al.*, 1989). Essi includono la misura degli inquinanti e dei loro metaboliti nei tessuti e liquidi corporei e riflettono le concentrazioni degli inquinanti che sono entrate nell'organismo. Indicatori specifici possono dimostrare altresì effetti fisiologici o danni a organi - ma possono essere anche interpretati come misure di esposizione. Per esempio, i livelli di attività colinesterasica negli eritrociti e nel plasma sono usati come bioindicatori di esposizione ai pesticidi organofosforici, che alterano l'attività colinesterasica irreversibilmente, legandosi con l'enzima colinesterasi.

Gli indicatori biologici integrano l'esposizione che proviene da fonti diverse. Questo comporta che non è necessario misurare l'esposizione per ciascuna fonte. Tale integrazione può essere svantaggiosa negli studi epidemiologici volti a studiare l'importanza di diverse vie di esposizione ambientale. In questi casi può essere necessario calcolare o determinare la relazione fra indicatore(i) di dose e l'esposizione derivante da più matrici ambientali (Brunekreef *et al.*, 1983).

### **Misurazioni dell'esposizione individuale**

Sono stati messi a punto numerosi strumenti di campionamento per misurare i contaminanti atmosferici; essi rientrano in genere in due categorie: campionatori attivi e passivi. Un campionatore attivo consta di un filtro o di un altro mezzo di campionamento attaccato a una piccola pompa dell'aria che

attivamente estrae l'aria a un tasso noto attraverso il campionatore. La concentrazione del contaminante viene calcolata dividendo la quantità raccolta dal campionatore per il volume di aria estratta dalla pompa. In un campionatore passivo non è presente la pompa e l'aria è campionata passivamente, grazie al suo movimento naturale e alla diffusione in essa del contaminante. Campionatori passivi sono usati comunemente anche per misurare l'esposizione a radiazioni. Un esempio familiare a molte persone che hanno lavorato in ambito sanitario è infatti il dosimetro indossato dai tecnici di radiologia. Esso viene indossato per un certo periodo di tempo e poi viene analizzato per determinare l'ammontare di radiazioni a cui il tecnico è stato esposto.

Molta della strumentazione attualmente utilizzata per misurare l'esposizione individuale che in quello generale è stata sviluppata originariamente per l'utilizzo in ambito occupazionale. L'esposizione a contaminanti, però, è generalmente più alta nell'ambiente di lavoro che nell'ambiente generale. Le tecniche per misurare l'esposizione occupazionale non sono, pertanto, necessariamente sempre appropriate per misurare l'esposizione ambientale. I fattori da prendere in considerazione quando si affronta il monitoraggio ambientale comprendono:

- il limite di rilevamento del metodo;
- la complessità delle miscele di contaminanti (poiché possono contenere sostanze che vanno a interferire con la sostanza in studio);
- la durata dell'autonomia della strumentazione alimentata a batteria;
- la possibile interferenza sulle attività quotidiane causata dall'indossare o tenere in funzione la strumentazione.

Se qualcuno di questi fattori comporta ostacoli significativi, si può intraprendere il monitoraggio dell'area piuttosto che a livello individuale. Nella Tabella 4.9 sono descritti i punti di forza e di debolezza del monitoraggio individuale e di area.

**Tabella 4.9 Forza e debolezza del monitoraggio personale e di area**

Tipo di monitoraggio	Forza	Debolezza
Area	Attrezzature sofisticate; campioni di grandi volumi; si può usare continuamente	Non rappresenta necessariamente l'esposizione personale
Personale	Rappresenta l'esposizione personale	Limiti volumetrici; peso delle attrezzature; piccoli volumi campionati; non si può usare continuamente

#### **Alimenti e acqua**

Per misurare l'esposizione personale a contaminanti che provengono da matrici diverse dall'aria, si possono utilizzare alcune tecniche. Un metodo accurato, anche se complesso, è quello dello studio della “**dieta in doppio**”, che consiste nel duplicare esattamente tutti gli alimenti e le bevande consumate dal soggetto, nel raccogliarli ed analizzarli riguardo ai contaminanti. Difficoltà pratiche limitano l'applicazione di questa tecnica alla raccolta di cibi per un tempo che va da una a poche settimane e per un numero ristretto di soggetti. La prova può essere ripetuta, ma è abbastanza elevato l'onere per l'individuo partecipante. Idealmente i soggetti in studio dovrebbero essere supervisionati.

Una valutazione indiretta dell'ingestione può essere ottenuta tramite studi della “dieta totale” o del “paniere della spesa”, e studi selettivi su singoli prodotti alimentari, o “indagini sui consumi” (metodo delle tavole nutrizionali).

Negli studi tipo paniere della spesa, sulla base dei dati sui consumi nazionali, sono predisposti campioni dei principali componenti della dieta, quali cereali, carni, ortaggi a radice ecc. Questi sono poi analizzati dopo una normale preparazione e cottura, misurando la concentrazione media di elementi tossici in ciascun componente. Una introduzione media giornaliera può essere poi calcolata per cia-

scun elemento e per la dieta nel suo complesso, se si dispone di informazioni sulle abitudini dietetiche. Gli studi si ripetono per stagioni diverse in regioni differenti, per rappresentare le variazioni locali nella dieta. Sono studi particolarmente validi per elementi largamente distribuiti fra tutti i principali alimenti (come piombo, cadmio) o quando, come per il mercurio e l'arsenico, la bioconcentrazione avviene quasi esclusivamente in pesci e molluschi.

Gli studi su **singoli prodotti alimentari** misurano le concentrazioni di contaminanti in campioni rappresentativi di alimenti di base. I livelli di più comune riscontro, insieme ai dati sui consumi alimentari, possono essere usati per calcolare le introduzioni medie giornaliere. Questo approccio è indicato particolarmente se la dieta si basa soprattutto su uno o due classi o tipi di alimenti, o se i programmi di monitoraggio hanno identificato la concentrazione media di un inquinante in un particolare prodotto (come il DDT nei cereali).

Le **indagini sui consumi** selezionano un campione di una popolazione di interesse, quali i giovani o gli anziani (che possono essere più suscettibili agli effetti di un agente biologico o chimico) per ottenere informazioni circa le più estreme abitudini di consumo del sottogruppo di popolazione. In Inghilterra questo approccio, tramite interviste, è stato adottato per determinare gli stili di consumo nel 5% della popolazione con i consumi più alti. Un'indagine sulle abitudini di consumo è quindi una rappresentazione accurata e razionale dei livelli di consumo dei consumatori più estremi e suscettibili. Questo metodo può aiutare a identificare consumatori che sperimentano esposizioni inaccettabili e/o un'accresciuta suscettibilità metabolica ad elementi tossici, a causa dei loro modelli di consumo.

#### **Misurazioni micro-ambientali**

Misurazioni microambientali sono, ad esempio, relative all'inquinamento dell'aria nelle abitazioni e nei mezzi di trasporto, ai contaminanti dell'acqua potabile e dei prodotti alimentari di consumo nelle singole famiglie.

L'esposizione a biossido di azoto (NO<sub>2</sub>) è stata spesso misurata negli studi epidemiologici tramite campionamenti di microambienti e, pertanto, può servire come esempio di questa tecnica. A metà degli anni '70, furono sviluppate tecniche di campionamento passivo per misurare NO<sub>2</sub> in aria, che si basavano su strumenti non costosi e piccoli (Palmer *et al.*, 1976). Molti studi epidemiologici sugli effetti respiratori dell'inquinamento indoor da NO<sub>2</sub>, prodotto dall'utilizzo di apparecchi di cottura a gas non aspirati, hanno impiegato questi campionatori, piuttosto che predire le concentrazioni di NO<sub>2</sub> sulla base della presenza e della tipologia d'uso di tali apparecchiature (vedere Tabella 4.8; vedere anche, per esempio, Dijkstra *et al.*, 1990; Neas *et al.*, 1991). Inoltre, molti ricercatori hanno esaminato la correlazione di tali misurazioni con l'esposizione individuale a NO<sub>2</sub>; la correlazione di tali medie giornaliere o settimanali con picchi di esposizione a breve termine, legati all'uso intermittente dei fuochi a gas, e il grado di incremento di precisione degli studi legato all'uso di misure reali di NO<sub>2</sub>, in confronto all'uso di variabili surrogate di esposizione (Noy *et al.* 1990; Schwab *et al.*, 1993, Xue *et al.*, 1993).

#### **Profili tempo-attività**

L'utilizzo di misurazioni di microambienti, per valutare l'esposizione umana a contaminanti ambientali, richiede la stima di dove e come i soggetti trascorrono il loro tempo. I profili "tempo-attività" si possono creare in vari modi. I soggetti possono essere invitati a completare questionari, come descritto in precedenza, dotati di diari e/o strumenti di registrazione, al fine di registrare dove e come trascorrono ogni periodo di 15 minuti. Microambienti che ricorrono comunemente (come la camera da letto, il soggiorno e la macchina) possono essere precodificati, altri possono essere inseriti quando necessario. Sensori a distanza sono un'innovazione recente. Un dispositivo viene indossato da un soggetto e il sensore può diversificare i microambienti in transito (il "tetto" del sensore sarà inferiore a 1.2 metri dallo stesso) o microambienti indoor (il "tetto" sarà fra 1,2 e 3,35 metri dal sensore) e ambienti outdoor (il "tetto" sarà oltre 3,5 metri dal sensore) (Moschandreas *et al.*, 1993). Talora, si richiede ai soggetti di indicare anche il livello di attività fisica, per stimare i volumi di aria inalati.



Un esempio di profili tempo-attività è lo studio di Schwab *et al.* (1990), che ha indagato l'esposizione personale a NO<sub>2</sub> in una popolazione di molte centinaia di soggetti viventi a Los Angeles. Fu loro richiesto di tenere un diario tempo-attività nel corso del giorno in cui venivano eseguite le misurazioni. Il tempo trascorso in ciascuno dei sette microambienti selezionati è mostrato nella Tabella 4.10. I microambienti furono definiti non solo per sede ma anche per attività ("cucina con gas aperto"; "cucina con gas chiuso"). I dati riportati in tabella mostrano che molto tempo veniva trascorso in casa (più di 16 ore in media al giorno): i soggetti passavano poi quasi tre ore al giorno outdoor, per la metà circa di questo tempo vicino a strade di maggior traffico.

**Tabella 4.10 Tempo (in ore) trascorso in ogni microambiente durante lo studio dell'esposizione a NO<sub>2</sub>**

Micro-ambienti	Campione Totale (n=1283)		Tempo trascorso nei microambienti dai partecipanti
	Media ( $\pm$ d.s.)	Percentuale di soggetti rispondenti	Media ( $\pm$ d.s.)
Cucina - con gas aperto	0.49 ( $\pm$ 0.86)	49.2	1.00 ( $\pm$ 1.00)
Cucina - con gas chiuso	0.75 ( $\pm$ 1.35)	52.2	1.36 ( $\pm$ 1.58)
Dentro casa - altrove	14.89 ( $\pm$ 4.28)	99.5	14.97 ( $\pm$ 4.14)
Nel luogo di lavoro/scuola	3.36 ( $\pm$ 3.85)	50.8	6.62 ( $\pm$ 2.75)
Interno - altro	1.69 ( $\pm$ 2.68)	57.3	2.95 ( $\pm$ 2.97)
Esterno - strade principali	1.71 ( $\pm$ 1.86)	79.4	2.15 ( $\pm$ 1.85)
Esterno - altro	1.16 ( $\pm$ 1.94)	52.9	2.20 ( $\pm$ 2.19)

Fonte: adattata da Schwab *et al.* (1990)

Un esempio di "auto-registrazione" dei livelli di attività è fornito dallo studio di Schwab *et al.* (1991) su un gruppo di bambini di 9-11 anni. Furono definiti tre livelli di esercizio:

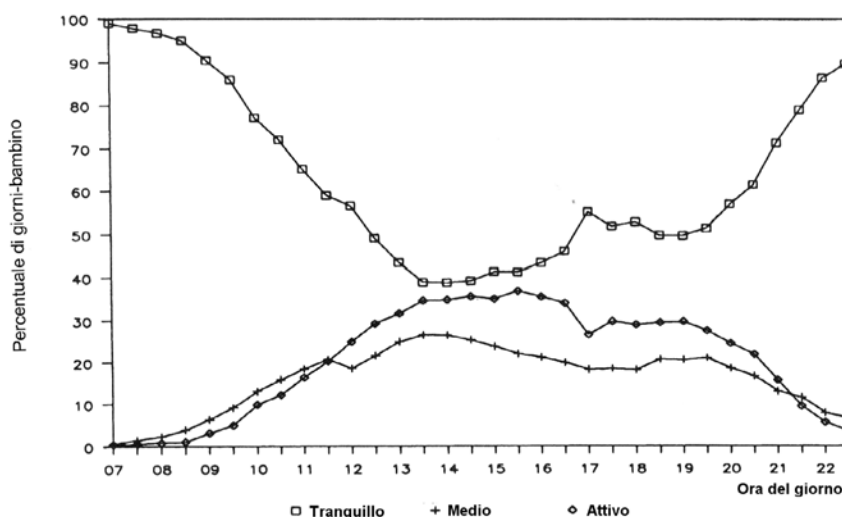
*Tranquillo*, sei abbastanza fermo e tranquillo, leggi, dipingi, dormi, guardi la tv o giochi al computer.

*Medio*, sei in movimento ma non troppo velocemente, stai giocando al chiuso, fai faccende domestiche, stai camminando per andare a casa di amici.

*Attivo*, usi molta energia e respiri intensamente, giochi e fai sport con gli amici, corri, e parli e ridi contemporaneamente.

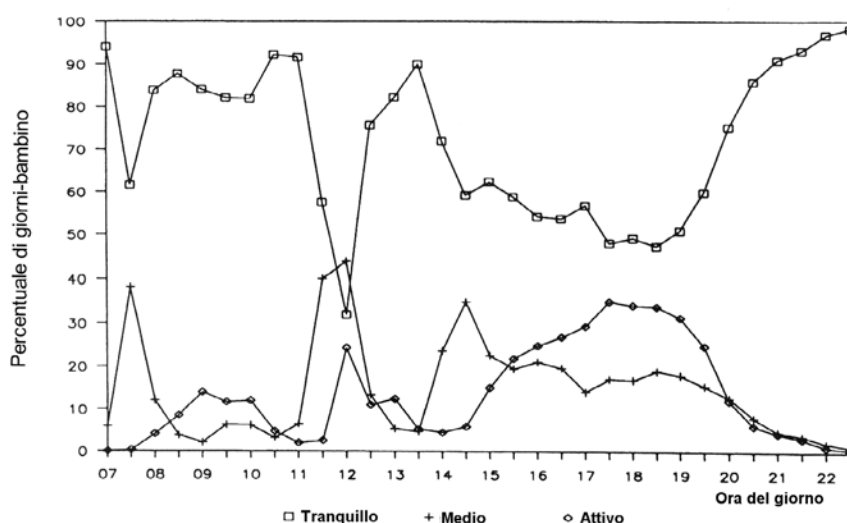
Fu determinato il tempo passato in diversi microambienti ai 3 livelli di attività predefiniti. I dati mostrarono che, in media, i bambini si consideravano attivi per tre ore e mezzo al giorno. Fu osservata una differenza marcata fra i livelli di attività in base all'ora del giorno, al tipo di giorno (di scuola e non), come si vede nelle Figure 4.7 e 4.8.

**Figura 4.7 Livelli di attività secondo l'ora e il tipo di giorno, in un giorno di scuola**



Fonte: Schwab, 1991

**Figura 4.8** Livelli di attività secondo l'ora e il tipo di giorno, in un giorno libero dalla scuola.



Fonte: Schwab, 1991

I dati tempo-attività possono essere combinati con le misurazioni dei microambienti per stimare l'esposizione individuale totale, in un certo periodo. Noy *et al.* (1990) hanno confrontato l'esposizione a NO<sub>2</sub> di bambini in età scolare con l'esposizione stimata in tre modi diversi:

- utilizzando le informazioni sull'impiego del tempo e sulla concentrazione di NO<sub>2</sub> in tre diverse stanze della casa (camera da letto, soggiorno, cucina);
- utilizzando la concentrazione media di NO<sub>2</sub> delle tre stanze;
- utilizzando la concentrazione di NO<sub>2</sub> nel soggiorno, come surrogato.

Le correlazioni fra l'esposizione individuale e le tre differenti stime di esposizione risultarono comparabili, dimostrando che per questa popolazione e questo inquinante, l'esposizione poteva essere stimata in modo affidabile sulla base di misurazioni fisse effettuate in una stanza della casa, senza la necessità di effettuare misurazioni in altre stanze. Non sono state raccolte informazioni sui profili tempo-attività: essi comunque non variavano significativamente, poiché i soggetti trascorrevano molto tempo nello stesso luogo (a scuola). I risultati non potrebbero essere estrapolati ad altre popolazioni con profili tempo-attività più eterogenei.

I profili tempo-attività sono comunemente elaborati negli studi sugli effetti dell'inquinamento atmosferico, ma possono essere utili anche per studiare fattori fisici come la radiazione solare UV, i campi elettrici e magnetici e gli inquinanti del suolo. Se ad esempio si deve valutare l'esposizione agli inquinanti del suolo, occorrono informazioni su quanto tempo i bambini trascorrono in siti contaminati.

I profili tempo-attività non sono rilevanti per misurare l'esposizione ad acqua o alimenti contaminati; tuttavia gli stessi concetti sono usati per gli studi sulla dieta già descritti. Nello specifico, gli epidemiologi usano questionari o diari per determinare il consumo di cibo per tipo e per quantità (paragonabili ai diari tempo-attività) e poi per stimare o misurare la concentrazione di contaminanti per ciascuna categoria di alimento (paragonabili alle misure ambientali per ciascun microambiente). L'informazione da queste due fonti viene poi combinata per calcolare l'esposizione integrata.

### Misurazioni di macro-ambienti

Le misurazioni di macro-ambienti si applicano al monitoraggio su una scala spaziale ampia, come una regione. Tradizionalmente gli studi sugli effetti sulla salute dell'inquinamento dell'aria outdoor hanno riscontrato un'associazione tra lo stato di salute di una comunità e le concentrazioni di inquinanti misurati in uno o più siti di monitoraggio. In termini di esposizione individuale, le misurazioni a livello macro-ambientale sono chiaramente meno precise delle misurazioni personali o microambientali, ma possono essere i soli dati disponibili. Inoltre, il monitoraggio macroambientale può esse-

re adatto in situazioni dove i contaminanti si disperdono in modo relativamente uniforme. Per esempio, come indicatori di esposizione potenziale ad arsenico e fluoro attraverso l'acqua potabile, possono essere appropriate le loro concentrazioni nelle forniture idriche municipali, poiché esse sono verosimilmente simili in ogni punto della rete di distribuzione.

### **Variabili surrogate di esposizione**

Se i contaminanti non possono essere direttamente misurati, possono rappresentare un'alternativa le variabili correlate con le concentrazioni di contaminanti ("variabili surrogate di esposizione"). Nella pratica corrente, la gran maggioranza degli studi epidemiologici deve affidarsi in una certa misura all'uso di variabili surrogate di esposizione, a causa della complessità e dei costi, generalmente proibitivi, connessi a ottenere misure biologiche e ambientali relative a un gran numero di soggetti.

La Tabella 4.11 mostra alcuni esempi di tipiche variabili surrogate di esposizione.

**Tabella 4.11 Esempi di variabili surrogate di esposizione**

Inquinamento atmosferico	ambiente 'urbano' rispetto al 'rurale' densità di autoveicoli
Fumo passivo	convivenza con fumatore proporzione di fumatori nella popolazione
Radon indoor	costruzione dell'edificio (materiali, entità del ricambio di aria nell'edificio)
Campi magnetici	configurazione della rete elettrica
Inquinamento idrico	pozzi o fornitura idrica pubblica
Dieta	fonte agricola principale
Sorgenti puntiformi (insediamento produttivo)	distanza dalla fonte

### **Distanza dalla fonte inquinante**

Le concentrazioni dei contaminanti tendono a decrescere rapidamente con la distanza, a seguito della dispersione nell'ambiente. La distanza da una fonte inquinante è perciò spesso usata come misura surrogata dell'esposizione in studi di popolazione su fonti inquinanti singole o fisse, come un impianto industriale o un sito di rifiuti pericolosi. Non è comunque indispensabile che la fonte sia puntiforme. Ad esempio, studi sulla contaminazione idrica, hanno impiegato la distanza da un fiume come variabile surrogata di esposizione, e studi sull'inquinamento atmosferico da piombo hanno misurato la distanza dalle strade a maggior traffico come variabile di esposizione in paesi dove si usa ancora carburante con il piombo.

Un ulteriore esempio riguarda l'analisi di 107 casi di legionellosi identificati in momenti diversi fra il 1978 e il 1986 a Glasgow, in Inghilterra. Il rischio relativo di sviluppare questa malattia è risultato correlato alla distanza dell'abitazione da una torre di raffreddamento, che era la fonte apparente dei microrganismi responsabili della malattia (vedere Tabella 4.12). Un altro esempio simile è mostrato nella tabella 4.13: esso indica che la percentuale di famiglie con bambini piccoli affetti da tracoma è dipendente dalla distanza rispetto alla fonte idrica più vicina.

**Tabella 4.12 Relazione fra distanza dalla torre di raffreddamento e rischio relativo per legionellosi a Glasgow**

Distanza dalla torre di raffreddamento	Rischio relativo (95% CI)
< 250 m	3.89 (1.92 - 7.70)
250 - 500 m	3.00 (1.79 - 5.02)
500 - 750 m	1.19 (0.62 - 2.22)
750 - 1000 m	1.11 (0.57 - 2.11)
>1000 m	1.00 (categoria di riferimento)

Fonte: adattata da Bhopal *et al.*, 1991

#### Fonti inquinanti nell'abitazione

Come detto nel paragrafo dedicato ai questionari, sono stati pubblicati ad oggi molti studi che hanno utilizzato le misure di concentrazione indoor di NO<sub>2</sub> per valutare l'esposizione. Questi studi sono stati avviati a seguito delle prime indicazioni di un rischio associato con la cottura a gas e della pubblicazione di un lavoro che dimostrava una chiara relazione fra l'uso di apparecchiature a gas prive di aspiratore e la concentrazione indoor di NO<sub>2</sub> (Palmes *et al.*, 1977). Altre fonti di esposizione a contaminanti interne o prossime alla abitazione comprendono:

- focolari (fonti di fumo da legna);
- caldaie a kerosene prive di aspiratore (fonti di prodotti vari della combustione);
- pareti umide (fonti di muffe, o indicatore della potenziale presenza nella casa di acari della polvere);
- mobili realizzati in legno truciolare (fonti di formaldeide);
- condotte per l'acqua al piombo (fonti di piombo nell'acqua erogata);
- elettrodotti (fonti di campi elettrici e magnetici);
- abitazioni situate in strade con elevati flussi di traffico (come indicatore di esposizione a inquinanti da traffico).

**Tabella 4.13 Percentuale di famiglie con bambini di 1-7 anni con tracoma in relazione alla distanza da una fonte idrica**

Distanza dalla fonte idrica in minuti di cammino	Tracoma in familiari (percentuale)*		
	Nessun bambino affetto	Qualche bambino affetto	Tutti i bambini affetti
< 30 minuti (389) **	38	25	37
0.5 - 2 ore (844)	27	24	49
> Ore (705)	27	21	50

\*  $p < 0.001$  \*\* fra parentesi i numeri delle famiglie interrogate

Fonte: WHO, 1991a

#### 4.4 Tecniche di modellizzazione dell'esposizione

Le stime tramite modelli sono state sviluppate come alternativa alla misurazione dell'esposizione a livello individuale. I modelli comportano la stima della esposizione personale utilizzando formule matematiche basate su dati e conoscenze di variabili aggiuntive, rispetto alle misure personali dirette. Concettualmente, i modelli di esposizione si usano se l'indagine si affida a variabili surrogate, poiché non è stata misurata l'esposizione diretta. E' importante segnalare che questi approcci prevedono concettualmente che le assunzioni circa la relazione fra la variabile surrogata e l'esposizione reale,

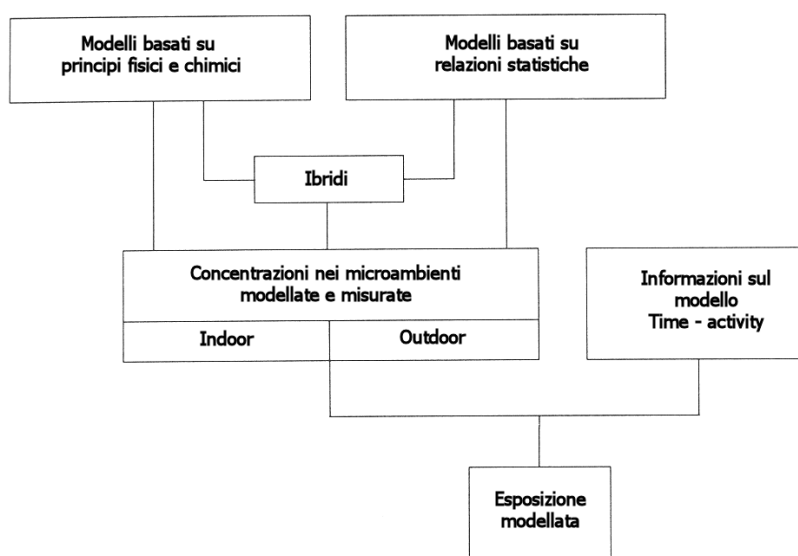
che sono implicite al modello, siano rese esplicite.

L'applicazione dei modelli di esposizione può essere immediata oppure, all'estremo opposto, può essere di complessità elevata. Tornando agli esempi già utilizzati in questo capitolo, un modello semplice di esposizione può essere costruito classificando l'esposizione individuale a NO<sub>2</sub> indoor sulla base dell'unica variabile surrogata relativa alla presenza di un fornello a gas o elettrico. Il **modello di esposizione integrata** è molto complesso ma ciononostante spesso utilizzato: tratta l'esposizione a un inquinante aerodisperso combinando le variabili tempo-attività e i dati delle misurazioni nei micro-ambienti (vedere Fig. 4.3). Questo approccio è da considerare un esempio di modellizzazione poiché l'esposizione personale non viene misurata direttamente e in continuo nello studio. Nel modello di esposizione integrata intervengono anche le misurazioni microclimatiche. Un altro esempio è quello relativo al calcolo della esposizione globale a contaminanti degli alimenti, tramite l'uso di informazioni sulla dieta e di dati sul contenuto dei cibi. I modelli possono incorporare anche conoscenze circa la tossicocinetica (come tassi di assorbimento, metabolismo, distribuzione, accumulo e secrezione di uno xenobiotico) per stimare la dose interna e la dose biologica efficace tramite l'uso delle concentrazioni ambientali. Questi modelli sono presentati, in genere, come modelli tossicocinetici o farmacocinetici.

Per stimare l'esposizione esistono due classi generali di modelli: “deterministico” (fisico) o “stocastico” (statistico). I modelli deterministici descrivono su base matematica la relazione fra le variabili, a partire dalle conoscenze sui meccanismi fisici, chimici e/o biologici che governano queste relazioni. Un esempio di un modello deterministico può essere il calcolo della dose di cadmio nell'organo target tramite l'uso dei dati sulle concentrazioni ambientali in varie matrici, insieme alle conoscenze circa il contatto previsto, i tassi di assorbimento e la tossicocinetica del cadmio assorbito.

I modelli stocastici esprimono la relazione statistica fra un determinante dell'esposizione e l'esposizione stessa, tramite inferenza dai dati raccolti in situazioni simili a quelle in cui si valuta l'esposizione. I modelli stocastici non richiedono necessariamente una conoscenza fondamentale delle relazioni fisiche, chimiche e/o biologiche che si determinano fra le variabili. La stima dell'esposizione a NO<sub>2</sub> in aria indoor, basata sul tipo di apparecchio di cottura (a gas o elettrico) e sulle conoscenze empiriche circa i livelli di NO<sub>2</sub> riportati in studi precedenti, è un esempio di modello stocastico. In questo caso non è necessaria la conoscenza delle proprietà chimico-fisiche di NO<sub>2</sub> e dell'aria indoor. Talvolta viene descritta una terza classe di modelli di tipo ibrido o fisico-stocastico, che combinano aspetti appartenenti alle due tipologie principali. La Figura 4.9 riporta schematicamente i modelli in uso nella valutazione dell'esposizione.

**Figura 4.9** Diagramma schematico dei modelli in uso nella valutazione dell'esposizione



Fonte: NRC, 1991b

Sexton e Ryan (1988) hanno confrontato i tre tipi di modelli in rapporto alla stima della esposizione a inquinanti, la loro analisi delle caratteristiche distintive di ciascun modello è riportata in Tabella 4.14.

**Tabella 4.14 Confronto tra approcci diversi nella modellizzazione dell'esposizione**

Parametro	<i>Tipo di modello</i>		
	Deterministico (fisico e biologico)	Stocastico (statistico o empirico)	Ibrido
Metodo di formulazione	Leggi fisiche	Test delle ipotesi (statistica empirica)	Leggi fisiche e statistica
Input richiesti	Conoscenza dei parametri importanti nel sistema in studio e dei loro valori	Dati sulla esposizione umana	Conoscenza dei parametri importanti e delle loro distribuzioni nei sistemi in studio
Vantaggi	Modello reale sviluppato da considerazioni a priori	Uso di dati reali nel processo di costruzione del modello	Modello sviluppato da considerazioni a priori; la parte stocastica permette che si tenga conto dell'incertezza
Svantaggi	Contiene il bias dell'investigatore; deve essere validato	Richiede il possesso dei dati per costruire il modello; è difficoltosa l'estrapolazione al di fuori dei dati di partenza	Richiede molta conoscenza dei sistemi; deve essere validato

Fonte: adattata da Sexton & Ryan, 1988.

### Modelli deterministici

Il modello sulla qualità dell'aria indoor, raccomandato dalla National Academy of Sciences degli Stati Uniti, è un modello deterministico per predire le concentrazioni dell'inquinamento indoor in singole abitazioni (NCR, 1981). Utilizza misurazioni o assunzioni circa i valori dei fattori che influenzano le concentrazioni degli inquinanti atmosferici indoor tramite i seguenti parametri: la concentrazione di un inquinante nell'aria dell'ambiente, il tasso di ventilazione, il tasso di decadimento dell'inquinante e il tasso di produzione. La struttura del modello è:

$$V \frac{dC_i}{dt} = P - E - Q * (C_i - C_o)$$

dove:	$V$	=	volume dello spazio indoor (m <sup>3</sup> )
	$C_i$	=	concentrazione dell'inquinante a livello indoor (µg/m <sup>3</sup> )
	$t$	=	tempo (h)
	$P$	=	tasso di produzione di inquinanti nello spazio indoor (µg/h)
	$E$	=	tasso di eliminazione dell'inquinante dallo spazio indoor attraverso processi chimici e fisici (µg/h)
	$Q$	=	tasso di scambio dell'aria con l'esterno (m <sup>3</sup> /h)
	$C_o$	=	concentrazione dell'inquinante a livello outdoor (µg/m <sup>3</sup> )

Per calcolare la concentrazione dell'inquinamento indoor per ogni punto nel tempo, sarà necessario disporre di dati o di conoscenze circa ogni inquinante.

Sono stati costruiti anche modelli per stimare la concentrazione di un inquinante nell'aria di un ambiente a un dato punto nel tempo e nello spazio, basati sulla conoscenza della dispersione e della reattività chimica degli inquinanti in atmosfera (vedere anche NCR, 1991b, per una trattazione ulteriore). Se i modelli si combinano e se si aggiungono informazioni sui comportamenti tempo-attività, si possono utilizzare modelli di qualità dell'aria indoor e outdoor per stimare l'esposizione personale a inquinanti atmosferici. Un modello semplice di esposizione personale è la media pesata nel tempo delle concentrazioni indoor e outdoor, ottenuta come segue:

$$C_p = C_o * \frac{t_o}{t_o + t_i} + C_i * \frac{t_i}{t_o + t_i} + [C_o * t_o + C_i * t_i] / (t_o + t_i)$$

dove:

$C_p$	=	esposizione personale
$C_o$	=	concentrazione nell'aria outdoor
$t_o$	=	tempo trascorso all'aperto
$C_i$	=	concentrazione nell'aria indoor (casa)
$t_i$	=	tempo passato all'interno (a casa)

In presenza di permanenze di breve durata in micro-ambienti non coperti dal modello (fermi restando gli altri fattori), rimarrà valida la stima prodotta dal modello. Viceversa se un tempo significativo viene trascorso in un microambiente in cui la concentrazione dell'inquinante è molto diversa sia da quelle indoor che outdoor, si possono avere risultati molto devianti.

Come regola generale, possono venire utilizzati i dati tempo-attività insieme a misurazioni raccolte in molti microambienti per stimare l'esposizione personale integrata nel tempo. Per un soggetto "i" l'esposizione personale integrata stimata è la somma del prodotto del tempo speso nell'ambiente "j" e la concentrazione dell'inquinante in questo microambiente, ovvero:

$$E_{ij} = \sum_{j=1}^J (c_{ij} * t_{ij}) \quad \mu\text{g}/\text{m}^3 * \text{h}$$

La tabella 4.15 mostra un esempio di modello di esposizione personale integrata di un individuo che passa attraverso numerosi micro-ambienti nel periodo delle 24 ore, incontrando concentrazioni diverse di CO. Da queste si ricava la esposizione cumulativa delle 24 ore. L'esposizione cumulativa a CO nell'esempio è 93 mg/m<sup>3</sup>-h, con una media pesata sulle 24 ore equivalente a 3.88 mg/m<sup>3</sup> (cioè 93/24 ore).

**Tabella 4.15 Esempi di micro-ambienti occupati dalle persone nelle 24 ore e concentrazioni di monossido di carbonio (CO) corrispondenti**

Tempo	Micro-ambienti	Concentrazione di CO	Durata	E <sub>ij</sub> (mg/m <sup>3</sup> - h)
00h - 07h	Casa	1	7 h	7
07h - 08h	Spostamento	17	1 h	17
08h - 12h	Ufficio	4	4 h	16
12h - 13h	Ristorante	9	1 h	9
13h - 17h	Ufficio	4	4 h	16
17h - 18h	Spostamento	18	1 h	18
18h - 20h	Negozi	3	2 h	6
20h - 24h	Casa	1	4 h	4
Totale			24 h	93

Fonte: WHO, 1982

Gli esempi precedenti sono relativamente semplici perché riguardano l'esposizione a un inquinante che avviene principalmente per una via unica. In linea di principio lo stesso approccio è alla base di modelli più completi che tengono conto di molteplici vie di esposizione e variabili, come le tipologie di attività e il tasso respiratorio, che possono influenzare l'assorbimento. I limiti dell'uso di questi modelli sono rappresentati dalla carenza della conoscenza circa tutti i parametri fisici e biologici, e

dal fatto che, comunque, possono mancare i dati di concentrazione da inserire nel modello.

Di recente gli epidemiologi hanno affrontato la distinzione fra esposizione potenziale (o concentrazione ambientale) e la dose biologica efficace, per cercare di determinare l'effetto preciso di un agente sulla malattia. E' stata quindi posta più attenzione nel conoscere i fattori biologici che influenzano la dose biologica efficace. I modelli tossicocinetici e farmacocinetici sono stati sviluppati per stimare la dose biologica efficace, usando misurazioni ambientali. Questi modelli farmacocinetici integrano i modelli di esposizione costruiti per stimare il modello completo dei fattori di rischio ambientali (vedere le Figure 4.1 e 4.2)

### **Modelli stocastici**

I modelli stocastici differiscono dai modelli deterministici nel fatto che adottano un approccio statistico o empirico per modellare la relazione fra i dati disponibili e l'esposizione stimata. Per creare i modelli non sono utilizzate assunzioni o conoscenze sui parametri fisici o biologici. I modelli stocastici richiedono, però, dati sull'esposizione e sui fattori che potenzialmente la influenzano. La relazione fra l'esposizione e i potenziali determinanti di esposizione viene poi esplorata usando tecniche statistiche. Poiché questa relazione è determinata innanzitutto dai dati, e non dalle assunzioni circa i meccanismi che governano la relazione fra esposizione ed i suoi determinanti, deve essere posta attenzione quando si estrapolano i modelli stocastici al di fuori dei dati e delle popolazioni su cui sono basati.

Sexton *et al.* (1983) hanno descritto, ad esempio, lo sviluppo di un modello stocastico per l'esposizione indoor a NO<sub>2</sub>. A Portage, Wisconsin, furono misurate le concentrazioni settimanali medie di NO<sub>2</sub> in 25 abitazioni dotate di cottura ad alimentazione elettrica e in 112 case con cottura alimentata a gas, durante un anno, in otto diverse circostanze. Ne fu derivato il seguente modello empirico:

$$C_i = a + 0.6 C_0$$

dove  $a = 0$  quando l'elettricità è usata per cucinare  
e  $45 \text{ (}\mu\text{g/m}^3\text{)}$  quando si usa il gas

$C_0$  = concentrazione NO<sub>2</sub> outdoor  
 $C_i$  = concentrazione NO<sub>2</sub> indoor

I valori di "a" e il coefficiente "0,6" di  $C_0$  furono derivati dai dati delle 137 abitazioni. Il modello si basa solo su due variabili, facilmente rilevabili - come l'uso del forno a gas e la concentrazione di NO<sub>2</sub> outdoor. Il modello non pretende di reperire dati su tutti i parametri del modello NAS Indoor Air Quality, descritto nel precedente paragrafo. La relazione fra la cottura a gas e l'esposizione indoor a NO<sub>2</sub>, può essere influenzata, ad esempio, dall'uso delle apparecchiature, dal volume della stanza, dalla ventilazione e dalla presenza di altre fonti indoor di NO<sub>2</sub>, come impianti di riscaldamento a kerosene o a gas non aspirati (Palmes *et al.*, 1979; Fischer *et al.*, 1986). Ciò nonostante questo modello empirico ha fornito una stima adeguata della esposizione indoor a NO<sub>2</sub>. E' stato quindi applicato in sei diverse città negli US, per stimare l'esposizione indoor a NO<sub>2</sub> utilizzando i dati della concentrazione di NO<sub>2</sub> outdoor e la percentuale di abitazioni dotate di sistemi di cottura elettrici o a gas. I risultati sono stati utilizzati in studi di epidemiologia ambientale.

Dal momento che gli epidemiologi tenderanno a utilizzare le maggiori conoscenze possibili circa i parametri fisici che governano l'esposizione, nonché tutti i dati disponibili sull'esposizione e sulla popolazione, non si può fare una netta distinzione fra modelli deterministici e stocastici. In molti casi le modellizzazioni delle esposizioni sfrutteranno tutti i dati disponibili e perciò i modelli saranno ibridi.

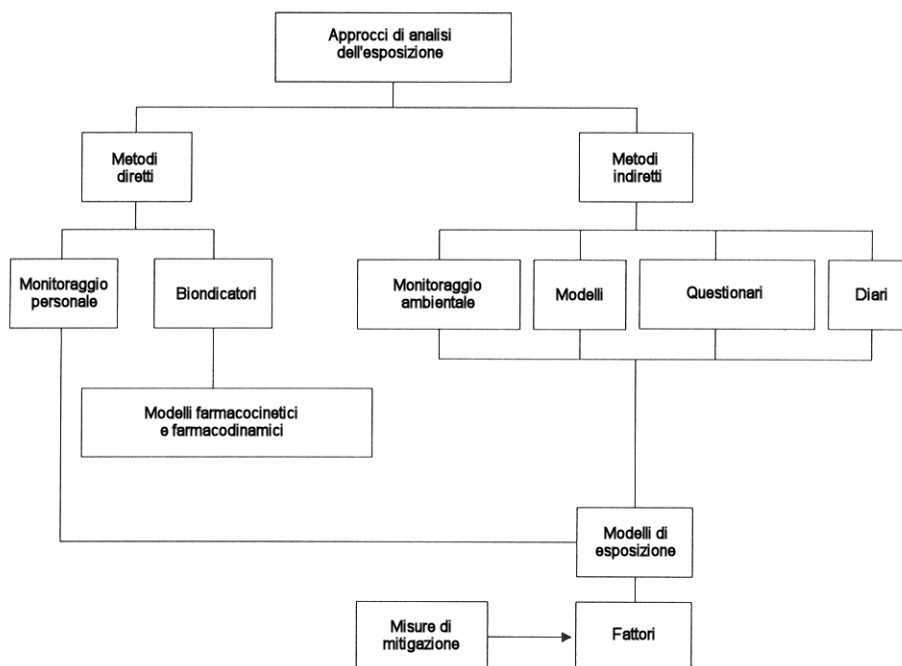
### **4.5 La variabile esposizione in uno studio epidemiologico**

La valutazione dell'esposizione è un processo che include: la selezione della variabile di esposizione appropriata, la misurazione dell'esposizione e quindi l'interpretazione della variabile ai fini dello studio epidemiologico. La valutazione dell'esposizione assumerà tutte le informazioni derivate dalle



misurazioni ambientali e dalle tecniche di modellizzazione descritte sopra. La figura 4.10 illustra come dovrebbe essere analizzata l'esposizione a contaminanti aerodispersi.

**Figura 4.10** Approcci di analisi dei contaminanti aerodispersi



Fonte: Sexton & Ryan, 1988

### Selezione della variabile di esposizione

Una fase critica del disegno di uno studio epidemiologico è la scelta della variabile di esposizione appropriata e della strategia di valutazione dell'esposizione. Talora si prendono in esame molte esposizioni, per condurre analisi separate o una singola analisi basata sull'esposizione combinata. La scelta delle variabili si deve basare sulla conoscenza delle leggi fisiche che governano la trasformazione e la dispersione degli inquinanti (o fattori di rischio) nelle matrici ambientali. La probabilità del verificarsi dell'esposizione è determinata anche dalle proprietà fisico-chimiche o biologiche dell'agente(i) e dai meccanismi biologici e farmacocinetici che governano l'assorbimento. Ognuno di questi fattori è da considerare quando si selezionano le variabili di esposizione.

Misurare i bioindicatori di dose interna o dose biologicamente efficace, o l'esposizione personale, benché tecnicamente possibile ed eticamente corretto, è in genere molto più costoso che usare misure di esposizione più semplici. I soggetti in studio devono, ad esempio, essere contattati individualmente per poter raccogliere campioni di sangue, o si deve richiedere loro di indossare i campionatori personali o di raccogliere una copia della dieta. Se si usano campionatori personali, occorre disporre di un largo numero di prove per avere una potenza statistica sufficiente e quindi eseguire molte analisi di laboratorio. Invece è verosimile che i finanziamenti per la valutazione dell'esposizione, come per le altre parti dello studio, siano limitati.

Armstrong (1993) ha messo a disposizione dei ricercatori uno schema generale a supporto della scelta della misura di esposizione per ottenere la massima attendibilità statistica. Questo approccio è rivolto in genere a ricercatori esperti e ne daremo qui solo una descrizione di massima. La premessa di base delle considerazioni di Armstrong è che misurare l'esposizione reale è da preferire alla misura approssimata, ma è più costoso. Tuttavia, se la correlazione fra variabile approssimata e l'esposizione reale è alta, si avrà una piccola perdita di attendibilità utilizzando la variabile surrogata. Inoltre, se il costo relativo alla misura approssimata dell'esposizione è chiaramente più basso di quello relativo alla misura reale dell'esposizione nei soggetti in studio, uno studio che utilizza la misura approssima-

ta sarà più efficiente.

Disegni dello studio alternativi possono essere confrontati calcolando “L’Efficienza Relativa Asintotica” (Asymptotic Relative Efficiency, ARE), definita come il rapporto fra la dimensione del campione necessaria per ottenere la stessa potenza nel riconoscere l’associazione (per ciascun disegno dello studio) (Armstrong, 1993). Se “ $r$ ” è la correlazione fra esposizione approssimata e quella reale, “ $C_i$ ” il costo base per includere un soggetto nello studio (per la valutazione dello stato di malattia, ad esempio), e “ $C_a$ ” e “ $C_r$ ” rispettivamente il costo della misurazione dell’esposizione approssimata e di quella reale, per soggetto, allora ARE può essere ottenuto come:

$$ARE_{a/r} = r^2 [(C_i + C_r)/(C_i + C_a)]$$

Se la correlazione fra la variabile surrogata e quella reale è pari a 0.5 ( $r^2 = 0.25$ ), l’uso della variabile surrogata sarà più efficiente se il costo totale della sua misurazione per soggetto è di oltre 4 volte ( $1/0.25$ ) più basso del costo della misura della variabile di esposizione reale. Differenze di costo di questo ordine o maggiori sono verosimili se la scelta è fra ottenere misure dell’esposizione personale di tutti i soggetti e raccogliere informazioni sulle fonti, le abitudini e/o le occupazioni tramite questionario, e se il costo fisso di inclusione dei soggetti nello studio ( $C_i$ ) non è così elevato rispetto al costo delle misure di esposizione stesse. Il Box 4.5 illustra queste considerazioni.

La decisione sull’uso della variabile surrogata di esposizione si deve basare sulla conoscenza della correlazione fra queste variabili e l’esposizione reale. Spesso quest’informazione deve essere ottenuta conducendo uno studio pilota, con un aggravio di costi rispetto allo studio complessivo. Armstrong (1993) fornisce anche indicazioni circa l’allocazione relativa del budget fra studio pilota e studio principale.

#### **Box 4.5 Costi economici di differenti tipologie di valutazione dell’esposizione.**

Prendiamo lo studio della relazione fra NO<sub>2</sub> indoor e funzionalità respiratoria dei bambini misurata tramite questionario e test funzionali. I costi per singolo soggetto in studio sono 10 US\$ per il questionario (stampa, invio ed inserimento dati) e 40 US\$ per i test di funzionalità respiratoria (costo del tecnico, del viaggio, dell’usura delle attrezzature). A questo si devono aggiungere altri 50 US\$ per soggetto per il costo globale di effettuazione dello studio (costo del ricercatore, costi di elaborazione).  $C_i$  ammonta quindi a 100 US\$. ( $C_i = 100$ )

Per lo studio dell’esposizione, la scelta è fra un questionario che raccolga dati sulle fonti indoor di NO<sub>2</sub> ecc., e due sopralluoghi nell’abitazione per posizionare e ritirare campionatori passivi di NO<sub>2</sub>. I costi relativi per singolo soggetto in studio sono 10 US\$ per il questionario (stampa, invio, inserimento dati) e 130 US\$ per le visite all’abitazione. In aggiunta, la preparazione e l’analisi dei campionatori passivi costa 10 US\$ /campione, che comporta 30 US\$ per singolo soggetto in studio, se si eseguono 3 campioni in ogni casa.

$C_a$  ammonta quindi a 10 US\$,  $C_t$  160 US\$ ( $C_t = 130 + 30 = 160$ ). La stima conservativa della correlazione fra NO<sub>2</sub> indoor e caratteristiche dell’abitazione è 0.7. Introducendo i valori suddetti nell’equazione:

$$ARE_{a/r} = r^2 [(C_i + C_r)/(C_i + C_a)]$$

Si ottiene un valore di 0.49  $[(100 + 160)/(100 + 10)] = 1.16$ , il che significa in questo caso, che si avrebbe una maggior efficienza a valutare l’esposizione tramite questionario che tramite misurazioni di NO<sub>2</sub> indoor.

#### **Dati individuali o di gruppo**

Quasi tutti i sistemi per misurare l’esposizione a livello individuale sono costosi e richiedono tempo. Di conseguenza non possono essere applicati facilmente a rilevanti numeri di soggetti nel corso di uno studio epidemiologico. Più comunemente, perciò, l’esposizione è valutata sulla base dei livelli di esposizione misurati in un’area definita. I livelli qui misurati sono poi utilizzati per assegnare un va-

lore a tutti gli individui che vivono o lavorano all'interno dell'area. Questo sistema necessariamente ignora le variazioni di esposizione individuali e causa una certa misclassificazione del livello di esposizione. È probabile che questi errori aumentino con l'aumentare delle dimensioni dell'area presa in considerazione. Perciò l'uso di aree di piccole dimensioni (come per esempio unità censuali o rioni piuttosto che intere città o province) dovrebbe consentire il miglioramento delle stime d'esposizione. Sfortunatamente, la mancanza di dati di esposizione a livello di aree dettagliate limita anche questo approccio.

### **Uso di dati esistenti**

L'uso in studi epidemiologici di database di esposizione ambientale già esistenti ha ottenuto una crescente attenzione. Dati ambientali raccolti routinariamente sono ampiamente disponibili in molti paesi. Alcuni di questi dati a livello nazionale e locale sono usati per creare i database del Global Environment Monitoring System (WHO, 1990, 1991 a, UNEP/WHO, 1993). Il sistema fornisce dati sui livelli di inquinamento di siti specifici, che possono essere usati per caratterizzare le esposizioni medie per regioni geografiche. Sexton *et al.* (1992) hanno fornito la descrizione di 67 diversi database correlati all'esposizione sponsorizzati dal Governo federale US. Gli autori riportano, però, che pochi database contengono dati di misure reali dell'esposizione o della dose nelle popolazioni umane. Matanoski *et al.* (1992) sottolineano che i database esistenti sono stati creati soprattutto per intenti regolatori, piuttosto che per l'uso in sanità pubblica o negli studi epidemiologici. Ciò nondimeno essi ritengono che con alcuni miglioramenti mirati, tali database potrebbero diventare utili strumenti per gli studi epidemiologici.

L'utilità dei dati dei database esistenti dipende, ovviamente, dalla capacità di correlare questi dati con l'esposizione reale dei soggetti. Le misurazioni del particolato effettuate ogni sei giorni, in una certa postazione, ad esempio, possono essere usate per valutare l'esposizione a lungo termine di quella comunità in studi comparativi dello stato di salute di comunità diverse. Tuttavia, perché questo approccio sia efficace, l'esposizione in quella comunità deve essere relativamente omogenea, ed i livelli di inquinamento atmosferico significativamente diversi fra le comunità a confronto. Inoltre, la correlazione fra l'inquinamento misurato in una sede e l'esposizione dei soggetti residenti in quell'area, deve risultare ragionevolmente alta. Per esempio, Dockery *et al.* (1993a) hanno seguito coorti di adulti residenti in sei comunità degli Stati Uniti, per circa 16 anni. Le comunità erano caratterizzate da livelli differenti di esposizione a lungo termine a particolato atmosferico: i livelli di PM<sub>10</sub> rispettavano in tutte le città gli standard di qualità dell'aria statunitensi, ma la mortalità dei soggetti vissuti nelle comunità più inquinate eccedeva quella dei residenti nelle località meno inquinate.

### **Valutazione prospettica e storica**

Gli epidemiologi ambientali sono spesso interessati all'effetto delle esposizioni ambientali su malattie croniche, come il tumore polmonare. Anche l'intervallo temporale fra l'esposizione e altri effetti sulla salute può essere di grande interesse per molti inquinanti. Per determinare il periodo di esposizione rilevante, occorre considerare sia il periodo di induzione che il periodo di latenza. Il periodo di induzione è l'intervallo di tempo che passa tra esposizione ed inizio della malattia. Il periodo di latenza è il tempo che va dall'inizio della malattia al manifestarsi dei primi sintomi; in altre parole, gli eventi sanitari osservati al momento possono essere dovuti a esposizioni avvenute molti anni o anche decenni prima. In questi casi, l'esposizione deve essere valutata retrospettivamente: ciò può essere problematico, poiché dati storici sui livelli di inquinamento sono spesso particolarmente scarsi.

Nell'epidemiologia occupazionale, le "matrici mansione-esposizione" sono state sviluppate per sostenere gli investigatori nell'assegnazione retrospettiva dell'esposizione subita dai singoli lavoratori. Le matrici si basano sulla descrizione delle mansioni che essi hanno svolto. Metodi per ricostruire retrospettivamente le esposizioni ambientali sulla base delle storie residenziali sono tuttavia ancora rudimentali. Esempi interessanti possono ritrovarsi in recenti studi sull'insorgenza del tumore polmonare in relazione all'esposizione a radon (Svensson *et al.*, 1989) e ad inquinamento atmosferico (Jedrychowski *et al.*, 1990).

Svensson et al. condussero uno studio caso-controllo sul tumore polmonare femminile in Svezia, confrontando fra casi e controlli le concentrazioni di radon nelle loro dimore precedenti. Lo studio includeva 210 casi incidenti di tumore polmonare femminile, 209 controlli di popolazione e 191 controlli ospedalieri. I 610 soggetti avevano vissuto per più di due anni in un totale di 3518 abitazioni. Misure di radon furono ottenute da un campione casuale di 303 abitazioni ed utilizzate per stimare l'esposizione avvenuta nel corso dell'intera vita dei casi e controlli. I risultati furono analizzati insieme con i dati sul fumo di tabacco (vedi Tab.4.16 per i principali risultati). I dati mostrano che il rischio di tumore polmonare aumenta col crescere dell'esposizione a radon, benché l'incremento è collocato soprattutto fra le fumatrici. Questo studio rappresenta in letteratura uno dei pochi tentativi sistematici di attuare stime quantitative retrospettive dell'esposizione ad agenti ambientali.

Jedrychowski *et al.* (1990) confrontarono 1579 morti per tumore polmonare a Cracovia, Polonia, riportate nel registro di mortalità per il periodo 1980-1985, con 1491 morti per altra causa (escluse le morti per malattie respiratorie). I decessi furono accoppiati per età e sesso, i parenti prossimi furono intervistati per avere informazioni sulle abitudini del soggetto rispetto al fumo di tabacco, sulla occupazione e sull'ultima residenza. Le residenze dei soggetti furono classificate per l'esposizione all'inquinamento atmosferico, sulla base di registrazioni del particolato totale sospeso e del biossido di zolfo per l'area di interesse. Dopo aggiustamento per fumo ed occupazione, gli investigatori riscontrarono che a Cracovia l'inquinamento atmosferico aumentava il rischio di tumore polmonare, agendo in sinergia con il fumo e l'esposizione occupazionale. Questo è un ulteriore esempio di studio in cui si cerca di ottenere dati storici sulle esposizioni ambientali e anche sull'esposizione a due confondenti principali. Lo studio si presenta, tuttavia, più limitato di quello svedese, a causa della mancanza di informazioni circa le residenze precedenti a quella della morte.

**Tabella 4.16 Stime di rischio relativo per esposizione a fumo e a radon**

Fumo	Livelli di esposizione a radon		
	< 4500 Bq/m <sup>3</sup>	4501-6000 Bq/m <sup>3</sup>	> 6000 Bq/m <sup>3</sup>
Mai	1.0 (controllo)	1.4	0.9
1-10 sigarette/giorno	2.4	4.8	6.5
> 10 sigarette/giorno	6.8	12.3	15.9

Fonte: adattata da Svensson, *et al.*, 1989

### Validità e precisione

Come detto al Capitolo 3, la **validità** di una misura di esposizione si riferisce alla corrispondenza fra la misura e la reale esposizione. Una bassa validità è dovuta principalmente a errore sistematico nella valutazione dell'esposizione. Se, ad esempio, la presenza di fumatori indoor determina le esposizioni individuali a polveri nell'aria, sarà bassa la validità della concentrazione di particelle misurata in una stazione di monitoraggio in area urbana come misura della reale esposizione a particelle. Non sarà infatti ben correlata all'esposizione personale e sottostimerà l'esposizione a particolato dei soggetti conviventi con fumatori. Può anche sovrastimare l'esposizione a polveri per soggetti che non vivono con fumatori, poiché non tiene conto della protezione da polveri ambientali che essi sperimentano permanendo al chiuso piuttosto che all'aperto. In aggiunta, un errore sistematico di misura può essere prodotto dall'uso di campionatori personali; se ad esempio il dispositivo di campionamento non è correttamente calibrato, o se il prelievo risultante non è manipolato con cura, o se non si seguono procedure corrette durante le analisi di laboratorio.

Molta attenzione è stata anche prestata alla possibilità di errore sistematico di misura da parte dello strumento. Tuttavia l'errore casuale dovuto a una debole correlazione fra una misura di esposizione e

l'esposizione reale può essere un problema più serio di una differenza sistematica fra l'esposizione misurata e la reale. Nel secondo caso, non viene compromesso il potere dello studio nel riconoscere la relazione fra esposizione e malattia. In teoria, sarebbe possibile correggere per l'errore sistematico. Se una pompa di un campionatore personale è calibrata in modo scorretto, cosicché campiona 1,9 litri di aria al minuto anziché 2.0 litri, sarà sbagliato il calcolo della concentrazione in aria basato sui dati del campionamento. L'analisi della relazione esposizione-risposta non necessariamente risulterà scorretta poiché ogni misura è sbagliata allo stesso modo. Infine, se l'errore di calibrazione verrà identificato (e dovrebbe esserlo se le pompe sono regolarmente controllate), può essere possibile aggiustare matematicamente, per l'errore riscontrato, i risultati dei campionamenti.

D'altro lato, se le pompe di campionamento sono inaffidabili e i tassi di campionamento dell'aria variabili (cioè imprecisi) e non prevedibili, non saranno possibili aggiustamenti per l'errore.

La **precisione** di una misura di esposizione si riferisce alla sua ripetitività. Una bassa precisione è dovuta a errore casuale e spesso si collega al campionamento ambientale, o alla strumentazione ed alla procedura analitica. Gli errori di campionamento e di analisi sono spesso molto meno significativi della variabilità reale della misura dell'esposizione, nel tempo e nello spazio. La valutazione della precisione di una misura di esposizione richiede una definizione a priori delle caratteristiche spaziali e temporali della variabile dell'esposizione reale. L'esposizione viene spesso misurata in ambiti di tempo e di spazio molto più limitati rispetto a quelli reali. Sono pertanto necessarie ripetizioni delle misurazioni per stimare la variabilità dell'esposizione reale.

Gli sforzi per ridurre la misclassificazione dell'esposizione dovrebbero concentrarsi innanzi tutto sul controllo di qualità del processo di misura (questo argomento è trattato al Capitolo 8). Un'ulteriore strategia è ottenere misurazioni ripetute per tutti i soggetti in studio. Nel caso si possa stimare la varianza intra e interindividuale da dati pubblicati o da uno studio pilota sulla popolazione di interesse, può essere calcolato il numero ottimale di misurazioni per persona (quali misure ripetute sulla stessa persona per ottenere un risultato costante), in base al numero totale di soggetti in studio. Misure ripetute possono, comunque, essere costose e rappresentare un indebito aggravio per i soggetti in studio.

Anche le stime dei potenziali fattori di confondimento possono essere misclassificate. Se avviene una misclassificazione non-differenziale di un confondente, l'aggiustamento statistico per il confondimento può risultare incompleto. La misclassificazione delle variabili di esposizione e dei confondenti dovrebbe pertanto essere presa in esame simultaneamente e con pari attenzione.

## 5 VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI SANITARI

### *Obbiettivi didattici*

- Conoscere quali effetti dannosi sulla salute possono essere provocati da fattori ambientali, in termini di tipo, gravità, tempo di inizio e durata.
- Essere capaci di sviluppare una definizione di caso e un questionario per la raccolta di informazioni sui sintomi.
- Comprendere i punti di forza e di debolezza delle differenti fonti di dati sugli eventi sanitari, quali dati di natimortalità, dati originati da indagini, cartelle mediche relative ai ricoveri ospedalieri e dati dei registri di patologia.
- Comprendere gli effetti tipici dell'ambiente sulla salute relativamente ai principali organi ed apparati ed essere consapevoli delle fonti informative sugli effetti sulla salute di specifiche esposizioni.

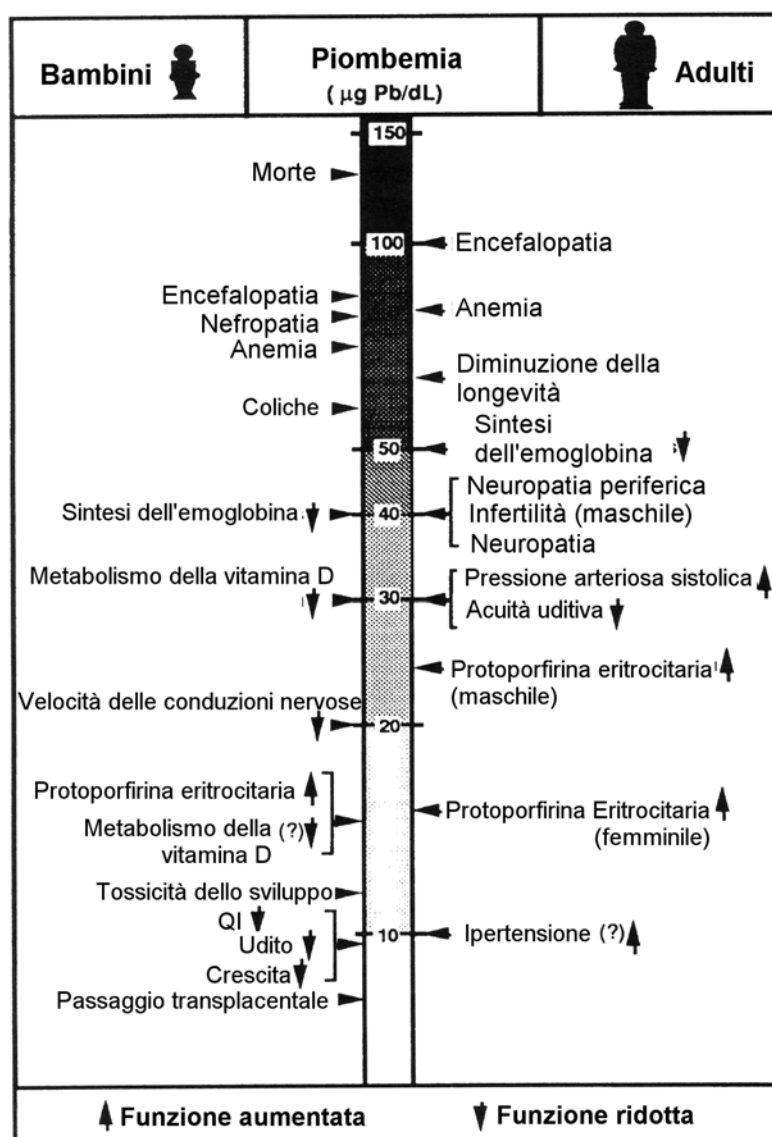
### *5.1 Nozioni di misura degli effetti sanitari*

Tutti gli organi e apparati del corpo possono subire effetti sfavorevoli a seguito di esposizione a fattori di rischio ambientale. Tali effetti vanno da variazioni fisiologiche e biochimiche lievi, che possono essere asintomatiche, a percezioni individuali o sintomi di malattia, a malattie clinicamente diagnosticate e, infine, alla morte. In generale, gli agenti tossici hanno come bersaglio componenti cellulari e molecolari specifici; per questa ragione in molti casi essi provocano effetti specifici in particolari organi bersaglio, mentre altri tipi di agenti determinano effetti su svariati tessuti e organi del corpo.

La **tossicità** è la capacità di un agente tossico di produrre lesioni in un organismo. La gravità dell'intossicazione dipende dalla via e dall'entità dell'esposizione e dalla dose ricevuta dall'organo/sistema bersaglio. A una data dose, l'estensione e il tipo della lesione sono modificati dalla via di assorbimento e, nel caso delle sostanze chimiche, dalla distribuzione e dal metabolismo nell'organismo, nonché dal tasso di escrezione. Il grado di tossicità è anche condizionato dal livello di suscettibilità dell'organismo al fattore di rischio. Conseguentemente, anche in presenza di una dose simile, gli effetti tossici possono variare tra l'uomo e gli altri organismi, tra sub-popolazioni umane, come gli adulti rispetto ai bambini, e tra individui nella stessa sub-popolazione.

Il piombo è un esempio di fattore di rischio ambientale che provoca un ampio range di effetti dannosi clinici e sub-clinici a diverse dosi. Questi effetti sono differenti e si realizzano a concentrazioni diverse, a seconda che siano esposti bambini o adulti (ATSDR, 1997; Fischbein, 1998) (vedi Figura 5.1). La **tossicità sub-clinica** si riferisce ad effetti dannosi sulla salute che possono essere stati causati da una esposizione ambientale all'agente tossico, ma non sono clinicamente riconoscibili. Encefalopatia, anemia, insufficienza renale sono tra le più ovvie manifestazioni cliniche osservabili ai livelli più elevati di tossicità. Una rallentata conducibilità nervosa, una indebolita biosintesi dell'emoglobina e un'alterata escrezione di acido urico sono alcuni effetti sub-clinici. È importante osservare che queste trasformazioni sub-cliniche rappresentano reazioni avverse da piombo e non sono soltanto aggiustamenti fisiologici dovuti alla sua presenza.

Figura 5.1 Effetti del piombo negli adulti e nei bambini a diverse concentrazioni ematiche



Fonte: ATSDR, 1992a

L'esposizione a pesticidi organofosforici (OP) fornisce un ulteriore esempio di range di manifestazioni cliniche tossiche. Nell'avvelenamento acuto da OP i sintomi e i segni di avvelenamento possono variare da una difficoltà respiratoria a diarrea, nausea e vomito; tutti questi sintomi possono essere confusi con l'andamento di una malattia infettiva acuta (Baker & Williamson, 1990; Schenk et al., 1998). Tuttavia, la presenza di visione offuscata, il rallentamento del battito cardiaco, le pupille a "punta di spillo" e la fascicolazione muscolare orientano all'eziologia chimica. Questi elementi, in associazione con una storia recente di esposizione a pesticidi, conducono a una diagnosi clinica di tossicità da OP. Gli esami di laboratorio dell'attività colinesterasica (riduzione della colinesterasi plasmatica o eritrocitaria) possono essere usati per verificare la diagnosi clinica e monitorare il recupero dopo l'avvelenamento.

I concetti inerenti gli effetti sanitari causati da rischi ambientali sono spiegati al paragrafo 1.3 e ulteriormente discussi al 2.2. Quando in uno studio epidemiologico si progettano strategie per misurare gli effetti sanitari, è importante che concetti come ad esempio quelli di effetti locali e sistemici, reversibili e irreversibili, acuti e cronici, immediati e ritardati (latenti) siano noti (per riveder questi concetti il lettore può confrontare il Capitolo 2).

### **Range di effetti**

Gli effetti indesiderati includono una varietà di effetti sanitari, da quelli sub-clinici alla morte. Questi effetti comprendono: modifiche biochimiche o fisiologiche che possono o meno essere associate con una malattia clinica ma avvengono comunque in risposta ad una esposizione ambientale (es. riduzione della colinesterasi dopo esposizione a OP, marker cromosomici quali gli addotti al DNA, cambiamenti dei tassi di flusso respiratorio nei test di funzionalità polmonare); effetti sulla riproduzione e sullo sviluppo (es. disordini nello sviluppo embrionale e fetale); malattie acute ben definite (es. diarrea causata da ingestione di acqua contaminata da batteri, difficoltà respiratorie e coma da esposizione a pesticidi); e, infine, malattie croniche (es. tumori associati a esposizioni chimiche, come leucemia da benzene, mesotelioma maligno da asbesto, tumori respiratori da arsenico, cancro polmonare da radon).

La principale ragione per studiare le variazioni subcliniche è che queste possono insorgere precocemente e possono essere predittive del futuro sviluppo della malattia clinica, orientando le strategie per la sorveglianza e la prevenzione della malattia stessa. Le variazioni subcliniche sono studiate perché possano fornire indicazioni circa il meccanismo con cui il fattore di rischio ambientale genera la malattia. Infine, ad ogni specifico livello di dose, le variazioni sub-cliniche possono insorgere in una percentuale della popolazione maggiore rispetto alla malattia clinica conclamata, così che gli studi epidemiologici sugli effetti sub-clinici possono avere un maggiore potenza statistica o capacità di trovare un'associazione con il fattore di rischio.

Le categorie di malattie comunemente correlate agli agenti ambientali sono state riassunte nella Tabella 2.1 (per una visione d'insieme degli effetti sulla salute per i vari sistemi ed organi, vedi paragrafo 5.4).

### **Rilevanza dei fattori genetici sugli eventi sanitari di origine ambientale**

Tradizionalmente i ricercatori hanno distinto le cause “genetiche” e “ambientali” degli effetti sanitari; questa distinzione non è appropriata, vista la stretta interazione tra fattori genetici e ambientali (Eaton *et al.*, 1998; Khoury *et al.*, 1994). Il danno genetico include sia aberrazioni cromosomiche sia alterazioni di un gene specifico. Il danno genetico a cellule somatiche e germinali può essere il meccanismo responsabili di molte tipologie di effetti sanitari, incluse la mancata riproduzione e il cancro. Molte sostanze chimiche possono indurre aberrazioni cromosomiche in cellule somatiche (Ames, 1979; Hulka *et al.*, 1990; Rosenkrantz, 1998). Sono compresi in questo elenco il benzene, i pesticidi, le nitrosamine, il cloruro di vinile monomero e numerose altre sostanze chimiche industriali ed i farmaci. Di conseguenza, sono stati fatti molti tentativi per la quantificazione del danno genetico sull'uomo, quale specifico effetto sanitario.

Un'altra ragione per cui le misure genetiche sono rilevanti in epidemiologia ambientale è che la variazione genetica nella popolazione può causare una variazione nella suscettibilità a specifiche malattie. Per esempio, alcune forme di polimorfismi genetici possono aumentare il rischio individuale di cancro del colon se si è esposti ad amine eterocicliche derivanti dagli alimenti (Lang *et al.*, 1994). Storicamente sono stati usati studi familiari per indagare la suscettibilità, ma le nuove tecnologie molecolari rendono possibile anche la valutazione della suscettibilità genetica usando sangue raccolto tra i partecipanti. I geni polimorfi candidati possono essere identificati e può essere misurato il peso di ogni loro forma allelica nello studio di popolazione. Questo campo è in rapida crescita grazie all'avanzamento delle nuove tecnologie (Perera, 1991; Schulte & Perera, 1993). Oggi, una proporzione crescente di ricerche in epidemiologia ambientale include misurazioni genetiche al fine di esaminare le interazioni tra gene e ambiente.

### **Effetti acuti e cronici (insorgenza e latenza)**

Il danno causato alla salute umana da rischi chimici o biologici è generalmente correlato alla dose. Considerando eventi a breve termine, la **tossicità acuta** può essere definita come la dose di fattore di rischio associata ad un effetto dannoso per la salute che si manifesta in un tempo stimato in minuti, ore o giorni. In questo contesto una singola dose del fattore considerato può esercitare una tossicità entro pochi minuti (es. rilascio acido cianidrico nella lavorazione a umido dei metalli), o ore (es. so-



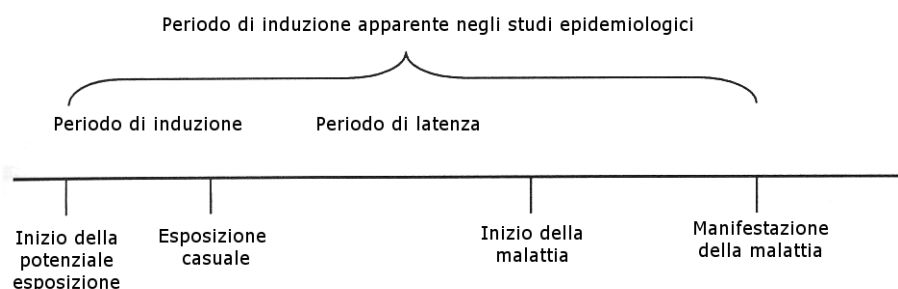
stanze chimiche tossiche che necessitano di attivazione metabolica), o giorni (es. tossine biologiche che si sviluppano in presenza di un'infezione stafilococcica).

Per alcuni fattori di rischio, gli effetti dannosi sulla salute sono ritardati: tale **tossicità ritardata** può essere correlata ad una grande varietà di fattori. Il danno al tessuto nervoso e le sequele comportamentali derivanti da una intossicazione da monossido di carbonio possono comparire parecchie settimane dopo l'insulto iniziale. Invece gli effetti di una esposizione ripetuta ad asbesto, come lo sviluppo di cancro polmonare o di una malattia polmonare (asbestosi), possono richiedere molti anni, talvolta decenni, prima di manifestarsi clinicamente.

Il ritardo prima della comparsa della malattia è generalmente chiamato **periodo di induzione o di latenza (o latente)**, per quanto questi termini abbiano un diverso significato. Il periodo di induzione è l'intervallo di tempo tra l'esposizione causale e l'inizio della malattia, mentre il periodo di latenza è l'intervallo di tempo dall'inizio della malattia alla sua manifestazione clinica (vedi Figura 5.2). Poiché l'esposizione causale non può essere determinata esattamente, il periodo di induzione è generalmente considerato come l'intervallo di tempo che parte dall'inizio dell'esposizione. Inoltre, essendo difficile stabilire esattamente il tempo di inizio della malattia per molte malattie croniche, risulta di conseguenza molto difficile distinguere, in pratica, tra periodo di induzione e periodo di latenza. In realtà gli epidemiologi tendono ad usare i due termini in maniera intercambiabile, per intendere l'intervallo di tempo tra l'inizio dell'esposizione e la manifestazione clinica della malattia.

Per gli agenti biologici, il periodo di incubazione rappresenta l'intervallo di tempo tra l'esposizione e la manifestazione della malattia. Durante il periodo di incubazione i batteri, i virus o i parassiti crescono di numero e sono trasportati agli organi critici, in cui si svilupperà la malattia. Questo periodo può essere lungo ore, giorni, settimane o anni. Per alcuni batteri il danno all'organo critico è rappresentato dalla produzione da parte del batterio stesso di una tossina chimica. Il periodo di incubazione per un agente biologico ha una diversa definizione tecnica rispetto al periodo di latenza per una malattia ad eziologia chimica, ma negli studi epidemiologici questi termini hanno la stessa definizione operativa (tempo tra l'esposizione e la manifestazione della malattia) e rappresentano lo stesso concetto.

**Fig. 5.2 Periodo di induzione e periodo di latenza in una malattia cronica**



### **Effetti specifici e non specifici**

Gli studi di epidemiologia ambientale possono essere progettati per misurare un effetto specifico associato ad un'unica esposizione, oppure possono prevedere la valutazione di una serie di effetti sanitari all'interno di un unico progetto. Il grado di specificità nella valutazione degli effetti sanitari dipenderà generalmente dalle conoscenze esistenti riguardo ai processi biologici ed epidemiologici e dalla qualità delle informazioni sul monitoraggio dell'esposizione per il fattore di rischio ambientale implicato. Gli studi possono focalizzarsi su un effetto primario e specifico, ma anche raccogliere informazioni su altri effetti secondari e non specifici. Per esempio, ampi studi di popolazione disegnati per valutare gli effetti di inquinanti chimici dell'aria sulle malattie respiratorie polmonari (es. cancro polmonare) possono anche prevedere di osservare nella popolazione l'effetto di allergeni (attraverso la riduzione FVC, FEV<sub>1</sub>).

### **Variabilità nell'ospite**

La possibilità di sviluppo di un effetto sanitario avverso, conseguente a un'esposizione a un rischio ambientale, è spesso influenzata dalle caratteristiche dei soggetti presenti nella popolazione esposta. La considerazione fondamentale è se le persone sono "a rischio" di sviluppare un effetto sanitario dovuto a un fattore di rischio ambientale (vedi paragrafo 3.1). Le persone non possono essere a rischio di sviluppare un evento sanitario specifico di un certo sesso se appartengono all'altro sesso (es. il cancro alla prostata può comparire solo nei maschi), oppure, se essi hanno già avuto un evento sanitario o una malattia non possono acquisirla nuovamente (es. per immunità conseguente ad una certa infezione). Comunemente, anche tra la popolazione a rischio si hanno variazioni nel grado di rischio che dipendono dalle caratteristiche dei soggetti. I fattori generali dipendenti dall'ospite che devono essere presi in considerazione includono l'età, l'etnia, i comportamenti (quali il fumare e l'esercizio fisico), l'igiene, la dieta e le condizioni sanitarie coesistenti.

### **Suscettibilità**

Come ricordato prima, alcune persone possono avere una predisposizione genetica per alcuni effetti o una aumentata suscettibilità a specifici fattori ambientali. Per esempio, la sindrome del basalioma nevoide predispone al cancro cutaneo indotto da radiazioni. In persone con questa sindrome lo sviluppo di un carcinoma basocellulare è accentuato, e insorge soltanto alcuni mesi dopo la più innocua radioterapia. Una simile suscettibilità genetica è sospettata per alcune sostanze chimiche, in relazione alla variazione individuale nelle vie metaboliche o nel sistema enzimatico (es. per gli idrocarburi aromatici). Un altro esempio di suscettibilità è l'enzima glutatione-S-transferasi (GST), che interviene nel metabolismo di detossificazione delle sostanze chimiche assorbite. Questa famiglia di isoenzimi catalizza la coniugazione di intermedi reattivi, quali gli epossidi che si formano nei primi stadi del metabolismo con il glutatione spazzino naturale dell'organismo. Gli individui con una bassa capacità di produzione dell'enzima hanno una ridotta capacità a coniugare sostanze elettrofili, e sono più a rischio di un evento mutageno che potrebbe essere associato al cancro. L'aumentata frequenza osservata nei pazienti affetti da cancro al polmone indica che questa deficienza è associata con la suscettibilità al cancro negli uomini (Seidegard *et al.*, 1986). In più, è stato dimostrato che questa deficienza è associata con la suscettibilità ad un aumento di danno cromosomico da certi agenti (Wiencke *et al.*, 1990).

La suscettibilità è un fattore particolarmente importante da considerare in epidemiologia ambientale. Come osservato nel Capitolo 3, la relazione tra l'esposizione e l'effetto biologico o malattia può essere modificata dalla porzione di popolazione suscettibile, e l'associazione fra l'esposizione e la malattia nella sub-popolazione suscettibile può essere mascherata o indebolita in uno studio che non considera la variazione della suscettibilità individuale. L'uso di biomarkers di suscettibilità potrebbe aumentare la precisione e la forza di un'apparente associazione esposizione-malattia, evitando l'effetto diluizione che avviene in popolazioni con una grande quantità di persone non suscettibili (Wilcosky & Griffith, 1990). Di conseguenza, i biomarkers di suscettibilità potrebbero essere usati per stratificare gli studi di popolazione così da poter fare più accuratamente la stima del rischio di malattia.

La Figura 2.1 mostra come diversi possibili markers di suscettibilità possono interagire nel continuum esposizione/malattia in molti punti. Per esempio, una modifica della permeabilità della membrana cellulare può influenzare la dose, aumentando il passaggio dell'agente xenobiotico e conseguentemente la dose assorbita. L'induzione di proteine carrier potrebbe interagire con il tessuto sensibile o il bersaglio cellulare, influenzandone la dose assorbita. Il livello degli enzimi riparatori operanti nel bersaglio cellulare può modulare l'effetto biologico, alterando con ciò la gravità della malattia. Inoltre, l'alterazione nei processi metabolici potrebbe variare la progressione della malattia. Un esempio è la N-acetiltrasferasi (NAT), un enzima non inducibile che funziona nella detossificazione per acetilazione delle ammine aromatiche, quali la benzidina e la 4-bifenil-ammina. Nella popolazione umana si hanno due fenotipi, uno con una bassa attività acetiltransferasica (acetilatori lenti), e uno con un'alta attività acetiltransferasica (acetilatori rapidi). Gli individui che appartengono alla categoria degli acetilatori lenti hanno un aumentato rischio di cancro vescicale poiché non possono detossificare le ammine aromatiche così rapidamente come gli acetilatori rapidi (Lower, 1982).

### **Iperreattività e ipersensibilità**

L'iperreattività e l'ipersensibilità sono termini simili che sono usati anche per identificare nella popolazione gli individui altamente sensibili, ma essi hanno un significato diverso dalla "suscettibilità" come descritta precedentemente. Nelle persone **iperreattive**, gli effetti dell'agente sono qualitativamente quelli attesi, ma quantitativamente aumentati. Nelle persone iperreattive, compaiono effetti "normali", ma a dosi più basse rispetto alla maggioranza della popolazione. È possibile che la variazione della suscettibilità sia dovuta all'interazione di alcuni fattori genetici e di altri fattori dell'ospite, ma, in pratica, non è possibile determinare esattamente perché le persone iperreattive siano più sensibili rispetto agli altri membri della popolazione.

L'ipersensibilità si riferisce al caso delle persone che reagiscono con effetti "allergici" dopo l'esposizione ad alcune sostanze (allergeni). La reazione allergica coinvolge il sistema immunitario del soggetto, dopo una sensibilizzazione alla sostanza. Queste reazioni allergiche includono sia condizioni cutanee, quali l'eczema e la dermatite da contatto, sia condizioni respiratorie, quali l'asma e la polmonite ipersensibile.

### **Definizione di caso**

Il primo passo in un'indagine di epidemiologia ambientale è quello di descrivere il problema definendo il caso. La definizione di caso è un insieme di criteri per decidere se un individuo può essere classificato come avente le condizioni di interesse (CDC, 1992). Ciò include criteri clinici così come criteri relativi al luogo e al tempo, nonché al tipo di individuo. Idealmente, i criteri clinici possono essere oggettivamente misurati (tipo: febbre  $>38^{\circ}$ ; elevati titoli di anticorpi; feci liquide tre o più volte al giorno). Nell'esempio del colera, un caso confermato può essere definito come diarrea con esame colturale delle feci positivo al *Vibrio cholerae*.

Nella elaborazione della definizione di caso, bisogna rispondere a molte domande:

- Come si presenta clinicamente la malattia?
- Come è possibile definire un caso in base alle osservazioni cliniche e ai test di laboratorio?
- In quale particolare popolazione compare la malattia, ed è veramente in eccesso?
- Quali possibilità eziologiche si possono immediatamente formulare in base a osservazioni cliniche o di popolazione?

Ogni qual volta sia possibile, un caso dovrebbe essere definito sulla base di oggettivi dati clinici e di laboratorio (es. polmoniti diagnosticate con indagini radiologiche; test di funzionalità epatica alterata), piuttosto che sulla base dei sintomi riportati dai partecipanti o dai loro familiari. Tuttavia, quando l'evidenza clinica non è disponibile o è inappropriata, allora è necessario usare altri mezzi per stabilire la definizione di un caso. Per esempio, a seguito della contaminazione di farina da polibromodifenile (PBB), nel Michigan (USA), fu definita una "sindrome da PBB" per mezzo dei dati di un questionario (consistente per la maggior parte in sintomi quali fatica, disturbi del sonno, dolori alle articolazioni, mal di testa). I dati del questionario possono essere combinati anche con dati clinici per stabilire la definizione di caso. Per esempio, i dati ottenuti da questionari standardizzati, assieme ai test di funzionalità polmonare, hanno giocato un ruolo decisivo nello sviluppo di una definizione di caso relativamente standardizzata di malattia ostruttiva polmonare cronica (COPD).

Le definizioni di caso di cancro, malattia respiratoria o cardiovascolare, sono generalmente ben note ai clinici. Tuttavia, la definizione di caso non è altrettanto facile per le malattie a eziologia sconosciuta, spesso coinvolgenti risposte immunologiche o neurologiche lievi o gravi, che possono essere messe in relazione con esposizioni ambientali (es. morbo di Parkinson, malattia di Alzheimer). Inoltre, possono essere difficili da definire esiti che consistono in un insieme di sintomi modesti e non specifici. Per esempio, può essere difficile stabilire una precisa definizione di caso quando viene studiato l'impatto di una esposizione a metalli pesanti sullo sviluppo post-natale dei bambini. I ricercatori misurano alcuni indicatori tipici dello sviluppo, quali l'età gestazionale alla nascita, il peso alla nascita, i cambiamenti nel peso e nella altezza post-natali; l'abilità del bambino a rotolarsi, alzarsi e cammi-

nare nelle appropriate tappe dello sviluppo e le funzioni neurocomportamentali a differenti età. L'analisi combinata di queste variabili (es. analisi fattoriale o altre tecniche di analisi multivariata) può aiutare lo sviluppo di una definizione di caso da usare in ulteriori studi.

Infine, informazioni associate ad ipotesi eziologiche che potrebbero successivamente essere oggetto di analisi epidemiologica non dovrebbero essere incluse nella definizione di caso. È chiaramente impossibile testare un'ipotetica relazione tra un'esposizione ad un particolare agente tossico e il verificarsi di una malattia se questa esposizione è intrinseca alla definizione di caso.

## **5.2 Tecniche di misura degli effetti sulla salute**

### **Fonti di dati**

I dati degli effetti sulla salute possono essere classificati come primari o secondari, in base alla ragione per cui vengono registrati la prima volta. I dati primari sono quelli specificatamente raccolti per uno studio particolare, attraverso, per esempio, un questionario o un'osservazione medica. I dati secondari sono raccolti per scopi diversi dal particolare studio, e generalmente devono essere estratti da record esistenti (Kelsey *et al.*, 1996). La completezza della registrazione e l'accuratezza delle informazioni che i record contengono possono variare molto. È perciò importante essere consapevoli della qualità dei record esistenti. L'uso di dati esistenti per gli studi epidemiologici è ulteriormente discusso nel paragrafo 6.2.

Fonti di dati per studi epidemiologici includono registri di malattie croniche ed infettive, registri dei difetti congeniti, cartelle mediche relative a ricoveri ospedalieri, visite ambulatoriali, visite in cliniche pediatriche, e programmi di monitoraggio ambientale. I dati raccolti da fonti ben gestite sono utili perché sono raccolti e diffusi in modo ragionevolmente standardizzato. La raccolta diretta di dati si ha quando un ricercatore registra i dati dei partecipanti allo studio espressamente per lo scopo dello studio (es. estrarre informazioni sui partecipanti allo studio da cartelle mediche). Un approccio indiretto può essere usato quando i casi di malattia da studiare possono essere identificati per mezzo di un sistema dati esistente. L'uso dei dati del certificato di morte è un esempio di fonte secondaria, indiretta, di dati.

In numerosi paesi esistono leggi che prevedono espressamente di riportare i dati sulla morbosità e sulla mortalità di specifiche malattie croniche o infettive. Queste leggi obbligano le istituzioni e gli operatori della sanità a segnalare i casi di specifiche malattie o di mortalità ad un organismo centrale od a un registro.

### **Data linkage**

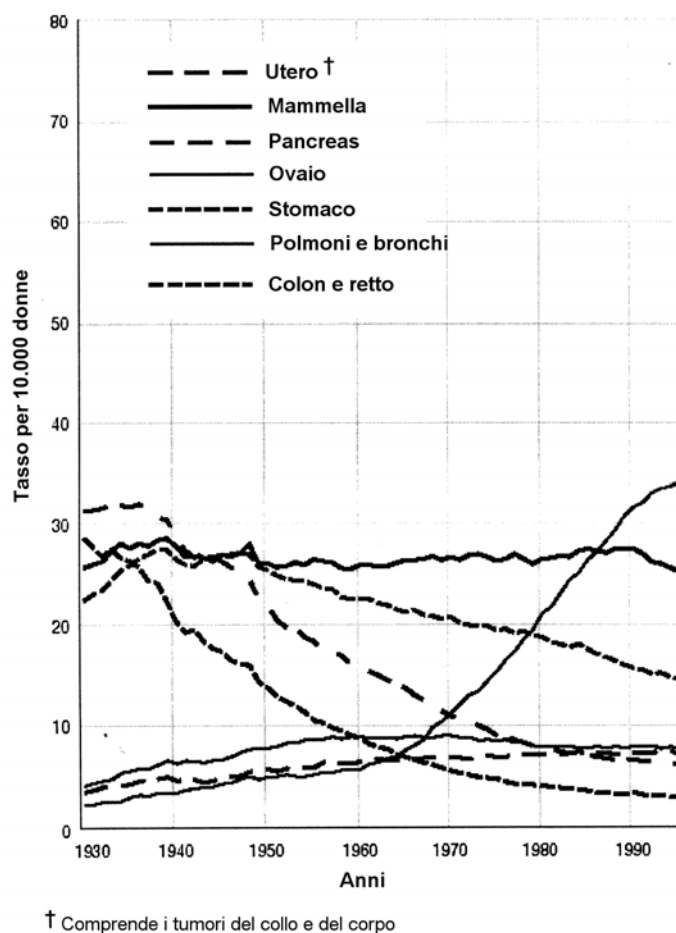
È vantaggioso sviluppare possibilità di collegamento fra fonti di dati, per fornire le migliori informazioni possibili agli studi epidemiologici. Chiaramente, il collegamento fra i registri di dati sulle malattie croniche con le basi dati ambientali faciliterebbe la ricerca. Per esempio, negli Stati Uniti l'Environment Protection Agency è impegnata a realizzare la National Human Exposure Assessment Survey (NHEXAS) ed a collegare i dati sviluppati in questa indagine con i dati sanitari e ambientali forniti dalle altre agenzie governative (es. Agency for Toxic Substances and Disease Registry e la National Health and Nutrition Examination Survey).

Spesso si usano sistemi passivi di linkage che prevedono collegamenti fra database con informazioni sulle persone affette dalla malattia di interesse. Sebbene un sistema passivo sia meno costoso, esso è soggetto alle limitazioni presenti nei database originali. Alternativamente un approccio attivo viene usato dai registri coinvolti nel progetto Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) del National Cancer Institute americano. L'approccio attivo alla raccolta dei dati comprende due passaggi: innanzi tutto l'individuazione dei casi, quindi la raccolta di un set di dati più dettagliati per un sottoinsieme di persone (quelle sospettate di essere esposte o a rischio).

Nello sviluppo di fonti di dati, l'attenzione dovrebbe essere collocata sull'analisi secolare (cambiamenti su un lungo periodo di tempo) delle esposizioni ambientali e della insorgenza di malattie. Nella

Figura 5.3, si possono vedere le variazioni avvenute nel tempo nei tassi di mortalità femminile per alcuni tipi di tumori. Il cancro del polmone nelle femmine mostra un andamento crescente dagli anni '60 ed il cancro della mammella mostra anch'esso un lieve aumento.

**Figura 5.3 Andamento della mortalità per cancro nelle femmine, USA, 1930-1995**



Fonte: Landis et al., 1999; dati da Vital Statistics, 1998

## Dati di mortalità e di morbosità

### Dati di mortalità

La mortalità è influenzata da fattori che riguardano la durata della malattia e la sopravvivenza, quali il riconoscimento e il trattamento, come pure l'incidenza. I certificati di morte sono basati sul concetto della causa di morte, definita come "la malattia o la lesione che inizia la catena degli eventi morbosi che conducono direttamente alla morte, o le circostanze dell'incidente che producono la lesione fatale" (WHO, 1993b). La completezza e l'affidabilità delle informazioni sulla mortalità variano molto nei diversi paesi del mondo. In America del Nord e in Europa, per esempio, la registrazione delle morti è praticamente completa e il certificato di morte contiene generalmente informazioni affidabili sulla mortalità, mentre in altri paesi e regioni del mondo le morti sono registrate in misura inferiore al 50%.

Alla base del sistema di registrazione della mortalità sta il fatto che tutte le cause di morte sono certificate da medici e iscritte in registri accessibili a soggetti autorizzati. Per esempio, negli Stati Uniti, i ricercatori devono fornire il proprio nome e altre informazioni identificative al National Death Index per conoscere lo stato vitale di un soggetto o il luogo di morte. Viene quindi contattato l'Office of Vital Statistics statale appropriato per una copia del certificato di morte. Altre fonti di informazione sull'evento di morte includono le registrazioni fatte in relazione all'impiego, alle tasse, al servizio

militare, alla patente, alle liste elettorali e alle assicurazioni di previdenza. Possono fornire ulteriori informazioni le associazioni professionali, sindacali o di studenti.

Senza dati clinici accurati, la causa di morte può essere inserita in maniera non corretta nei registri di mortalità. Sono raramente disponibili dati di comorbidità, a meno che tutte le cause (immediate e contribuenti ed anche preesistenti) previste nel certificato siano state codificate. Pertanto, in assenza di codifica delle cause multiple di morte, o di informazioni derivanti dall'autopsia, le informazioni sulle cause di morte codificate nel certificato possono essere ingannevoli. Inoltre i certificati di morte non contengono informazioni su altri fattori di rischio (es. fumo di tabacco, esposizione professionale); di conseguenza è difficile usare i dati generati da un registro di mortalità senza integrarli con altre fonti.

È importante sottolineare anche come i dati di mortalità non forniscano informazioni per indagare sulle condizioni di salute non letali (es. asma, malattie cardiovascolari, effetti sulla riproduzione) e come possano anche essere non idonei per studiare l'eziologia di condizioni di lunga durata (es. malattie cardiovascolari), e le condizioni che hanno una bassa letalità.

#### **Dati di morbosità**

I dati di morbosità possono essere forniti da indagini sanitarie, da records medici (inclusi quelli gestiti da ospedali, pronto soccorso, cliniche e medici generici) e da registri di patologia. Estrarre le informazioni di interesse da registrazioni cartacee può comportare un notevole impegno di tempo. Inoltre, le informazioni ottenute solo dai servizi sanitari riflettono la popolazione di pazienti che usa tale servizio medico specifico e non sono assolutamente rappresentative della popolazione complessiva. Dati forniti per mezzo di studi epidemiologici disegnati propriamente, che utilizzano questionari, possono essere una fonte affidabile di informazioni sulla morbosità.

#### ***Cartelle ospedaliere***

Le cartelle ospedaliere possono fornire utili informazioni sulla morbosità e sulla mortalità, per quanto i ricercatori debbano usarle con attenzione in considerazione dei fattori associati alle pratiche di ricovero ospedaliero (le informazioni ospedaliere spesso non sono complete; i medici generici non ospedalizzano tutti i loro pazienti affetti da una particolare malattia; alcuni pazienti muoiono prima del ricovero), o a causa dei partecipanti allo studio che non riflettono accuratamente il bacino di utenza di tutti i ricoveri ospedalieri. Per esempio, se una proporzione apprezzabile di pazienti ricoverati in ospedale proviene da aree esterne alla comunità studiata, le statistiche di morbosità e di mortalità di quell'ospedale non saranno affidabili come misura di prevalenza della malattia in quella comunità. Chiaramente, lo stato socioeconomico, congiuntamente alle politiche di assicurazione sanitaria, può giocare un ruolo nel processo di ricovero ospedaliero e nelle modalità di trattamento del paziente stesso. E' necessario essere a conoscenza di tutti questi problemi nel valutare quali informazioni ospedaliere siano affidabili per l'utilizzo in uno studio.

#### ***Record occupazionali e scolastici***

Informazioni dal mondo del lavoro o dalla scuola possono essere usate per stimare la morbosità in popolazioni selezionate. Due sono le principali limitazioni di queste informazioni. Primo, esse sono applicabili generalmente a una popolazione non rappresentativa. Secondo, le informazioni mediche registrate possono non essere accurate. In alcuni casi, "l'assenza per malattia" può essere registrata per ragioni diverse dallo stato di salute. Per esempio, si sa che l'assenteismo scolastico è in relazione con i giorni della settimana, con la stagione dell'anno e con gli eventi sociali o con fattori comportamentali che influenzano la popolazione studentesca.

#### ***Registri delle malattie notificabili***

Quando ai medici di base o ad altri erogatori di cure mediche viene richiesto per legge di registrare in un sistema centralizzato l'insorgenza di specifiche malattie, come la tubercolosi, le malformazioni congenite o i tumori, le basi di dati così accumulati sono conosciute come registri (es. registri dei tumori). In alcune giurisdizioni governative anche i dati di incidenza di malattie correlate all'ambiente

possono essere riportati in un registro (es. avvelenamento da pesticidi in banche dati del Poison Control Centre). Tuttavia, la completezza della registrazione è determinata dalla buona volontà di chi provvede a registrare il caso in tempo e in maniera idonea. La validità di questi rilevamenti può essere stimata tramite l'uso di indagini di comunità e controllando le cartelle mediche.

I dati generati alla nascita e dai registri dei difetti congeniti sono utili per valutare gli effetti correlati ad un'esposizione ambientale all'interno delle comunità (es. mortalità infantile, ridotto peso alla nascita, aborto precoce). Tuttavia, i certificati di nascita contengono solo limitate informazioni sugli esiti sfavorevoli (es. i certificati di nascita registrano solo le più importanti anomalie strutturali o funzionali osservate alla nascita, non le anomalie che si sviluppano più tardi) e devono essere valutati con cura.

#### ***Indagini sanitarie basate su interviste***

In indagini sanitarie basate su interviste, un campione di individui viene consultato riguardo al suo ambiente sociale, la sua consapevolezza di segni e sintomi di malattia, il suo atteggiamento verso la malattia e la salute e il contatto che ha con il servizio sanitario. Il campione di popolazione può essere rappresentativo della popolazione totale, o di una sub-popolazione scelta per distribuzione geografica o per altre caratteristiche. Questa indagine può essere la via efficace, sul piano dei costi, per ottenere dati da un grande campione di persone, in confronto alle più ingenti risorse che sarebbero necessarie per visitare i soggetti, usando staff medici o di altro tipo. I dati possono essere ottenuti dai soggetti per mezzo di vari metodi, inclusa l'autocompilazione di un questionario, l'intervista diretta, l'intervista di gruppo, o i diari.

#### ***Indagini sanitarie basate su visite mediche***

Nelle indagini sanitarie che includono visite mediche si raccolgono informazioni sia tramite intervista che visita medica. Problemi che si incontrano con questo tipo di indagine includono la quantità di risorse richieste per raccogliere il campione e per visitare la popolazione dello studio. Chiaramente i costi delle visite mediche, assieme ai costi della raccolta di campioni di tessuti o liquidi biologici, influenzano fortemente le dimensioni dello studio. Tuttavia, il maggior vantaggio delle indagini sanitarie con esami è che, tramite l'identificazione di parametri fisiologici, neurologici e psicologici, le variazioni dalla norma possono essere comparate e messe in relazione ad una popolazione standard di riferimento.

#### **Questionari**

I questionari sono i principali mezzi con cui gli epidemiologi raccolgono informazioni sulle caratteristiche della popolazione da studiare. Attraverso i questionari si possono raccogliere informazioni demografiche (es. età, sesso, razza, gruppo etnico); sui fattori sociali (es. occupazione, educazione, stato socioeconomico); sulle abitudini personali (es. fumo, farmaci, uso di droghe); sulle caratteristiche genetiche (es. condizioni ereditarie) e infine sull'anamnesi individuale e familiare (es. ipertensione, diabete, malattie cardiache, tumori, effetti sulla riproduzione). Come visto nel Capitolo 4, i questionari sono anche usati per raccogliere informazioni sulle attività svolte, nel tempo e nello spazio, che risultano utili per stimare l'esposizione.

I questionari dovrebbero essere disegnati avendo in mente il concetto di brevità, poichè è sempre presente la tentazione di "fare una domanda in più". Spesso il tasso di partecipazione è inversamente proporzionale alle dimensioni del questionario (cioè, più è ampio il questionario minore è il tasso di risposta). I questionari dovrebbero essere disegnati per rispondere a domande molto specifiche, e, se possibile, dovrebbero essere preparati in maniera tale che chi risponde possa scegliere tra un limitato spettro di risposte predefinite. Come esempio, di seguito si riportano le domande predisposte per ottenere informazioni sull'aborto spontaneo in un gruppo di donne addette alla raccolta di frutta esposte ai pesticidi.

1	E' mai stata incinta?	Si ( )	No ( )
1a	Se sì, qual'è il numero totale delle gravidanze che ha avuto? (specificare il numero) ____		
1b	Se sì, qual'è il numero di aborti spontanei che ha avuto? (specificare il numero) ____		
1c	Se sì, qual'è il numero di nati vivi che ha avuto? (specificare il numero) ____		
2	Ha una gravidanza in corso?	Si ( )	No ( )
2a	Se sì, in quale mese è di gravidanza? (numero mesi di gravidanza) ____		
3	Ha avuto una gravidanza che si è conclusa negli ultimi 12 mesi?	Si ( )	No ( )
3a	Se sì, a quanti mesi si è conclusa la gravidanza? (numero mesi di gravidanza) ____		
4	Sta allattando al seno?	Si ( )	No ( )

Un altro esempio è rappresentato da un gruppo di domande che riguardano l'ipertensione in una popolazione in studio:

1	Alcune domande relative all'ipertensione (alta pressione sanguigna):	
a	Il medico le ha mai detto di avere la pressione del sangue alta ? Si ( )      No ( )	
b	Un altro nome della pressione del sangue alta è ipertensione. Il medico le ha mai detto di aver l'ipertensione ? Si ( )      No ( )	
c	Se il medico le ha detto di avere la pressione del sangue alta (ipertensione), da quanto tempo ne è a conoscenza? (specifica il numero) ____ mesi ____ anni	
d	E' successo nello scorso anno ? Si ( )      No ( )	

L'uso dell'approccio del tipo " il medico le ha detto" riduce la possibilità di cattiva informazione migliorando la capacità di ricordo. Le persone richiamano meglio un evento sulla salute quando questo è diagnosticato dal medico.

Quando si costruisce un questionario dovrebbero essere considerate la lingua e le caratteristiche culturali della popolazione in studio. Le domande dovrebbero essere espresse in un linguaggio semplice, non ambiguo, facilmente comprensibile da tutti i membri della popolazione. Il questionario dovrebbe essere scritto nel linguaggio(i) più comune usato dalla popolazione in studio, e gli intervistatori dovrebbero usare un linguaggio facile, o disporre dell'aiuto di un interprete nella somministrazione delle domande. Si dovrebbero considerare le possibili reazioni di chi risponde alle domande nel questionario, dato che la posizione di alcune domande può indurre a rifiutare le successive (es. l'informazione sullo stato socioeconomico, l'educazione e il reddito).

Nel disegnare un questionario il ricercatore deve accertarsi che:

- siano richieste adeguate informazioni demografiche sui partecipanti allo studio;
- le domande siano raggruppate in modo appropriato, e siano dotate di risposte in modo da ridurre la probabilità di errore casuale, bias, o di non risposta;
- i salti del percorso siano chiaramente espressi e facilmente identificabili;



- le istruzioni per registrare le risposte siano chiare, lo spazio adeguato, e siano differenziate le non risposte (missing data) dai dati “zero”;
- le domande siano “di facile comprensione” per la popolazione oggetto di studio, mantenendo, se possibile, domande semplici e mirate;
- solo le domande “necessarie” siano fatte agli intervistati;
- il questionario sia “codificato” propriamente e, se possibile, sia a lettura elettronica.

Nel condurre un’indagine, il ricercatore deve decidere se usare un questionario auto-somministrato o se usare intervistatori per raccogliere le informazioni dai soggetti. Sebbene i questionari auto-somministrati siano meno cari, il tasso di risposta è comunemente migliore quando si utilizzano gli intervistatori. Essi sono abili nel comunicare con il partecipante, sia per sciogliere le preoccupazioni, sia per ottenere le informazioni più difficili. Con l’intervistatore, chi risponde può anche chiedere e ricevere spiegazioni sulla domanda, o aiuto nel completare lo stampato. L’intervistatore garantisce, quindi, di ridurre gli errori dovuti all’impossibilità di chi risponde di dare una risposta esauriente.

Considerazioni sulla validità e l’attendibilità sono importanti quando si sviluppa un questionario (vedi paragrafo 5.3). Per esempio, il questionario dovrebbe essere costruito in modo da minimizzare gli errori potenziali lasciando tutti i calcoli matematici all’analisi dei dati di follow-up. Quando si indaga l’età all’insorgenza di una data malattia, ad esempio, sarebbe più appropriato chiedere l’anno: l’età può poi essere calcolata dalla data di nascita.

Per saggiare la validità di un questionario, è consigliabile utilizzare un criterio esterno, quale la diagnosi medica di ipertensione per validare la domanda sulla pressione alta. Un altro esempio è l’analisi della cotinina comunemente usata per “validare” le domande sul fumo, benché, tecnicamente, non possa “validare” la storia del fumo in quanto le misurazioni della cotinina e le risposte del questionario hanno un margine di errore. Detto questo, il questionario può chiedere:

Nelle due ultime settimane, quanti pacchetti di sigarette ha fumato ogni giorno?	
a.	non ho fumato _____
b.	< di 1 pacchetto/giorno _____
c.	1 pacchetto al giorno _____
d.	> di 1 pacchetto/giorno _____

Il ricercatore dovrebbe analizzare anche il contenuto di cotinina nell’urina e nella saliva dei partecipanti, per valutare la coerenza con le risposte del questionario (vedi Tabella 2.3, che mostra un confronto tra storia del fumo e concentrazione di cotinina). Tuttavia, tale verifica biologica può essere molto costosa e richiedere tempo.

È anche utile somministrare il questionario alla stessa persona in due o più occasioni, per valutare l’attendibilità. Sfortunatamente, nei grandi studi i ricercatori non sono solitamente in grado di utilizzare misure esterne di validità, o di somministrare i questionari in tempi diversi. È possibile, alcune volte, saggiare la validità e l’affidabilità con uno studio pilota, per aumentare la dimestichezza con questi problemi, prima di intraprendere lo studio completo della popolazione. Il ruolo dello studio pilota è trattato più avanti, al paragrafo 8.5.

È così possibile costruire un questionario che può essere valutato per la “coerenza interna” e affidabilità. Questo può essere fatto sottoponendo due o più domande per ottenere dai partecipanti risposte allo stesso quesito. Per esempio, per raccogliere informazioni sulla “sicurezza dei pesticidi” e sull’etichettatura, si possono fare le seguenti domande:

Ha familiarità con le informazioni di sicurezza elencate sull'etichetta dei pesticidi?		
Si ( )                      No ( )		
Verso la fine dell'intervista, possono essere fatte le seguenti domande:		
Quale informazione di sicurezza è contenuta nell'etichetta dei pesticidi?		
1. Ingredienti attivi	Si ____	No ____
2. Informazioni sulla preparazione e applicazione	Si ____	No ____
3. Misure cautelative	Si ____	No ____
4. Antidoti e indicazioni di primo soccorso	Si ____	No ____
5. Istruzioni per il deposito e lo smaltimento	Si ____	No ____
6. Informazioni tossicologiche	Si ____	No ____
7. Non conosce cosa c'è sull'etichetta	Si ____	No ____
Altro (specificare) -----		

Quando è possibile, un questionario dovrebbe essere basato su questionari precedentemente usati e testati. Si tratta di un vantaggio perché i problemi di progettazione possono essere già stati identificati e corretti, ed è particolarmente utile se i dati sono da confrontare con quelli ottenuti da indagini precedenti. Per esempio, le domande sulla riproduzione sopra citate sono estratte dalla National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) degli Stati Uniti e furono usate in uno studio sul campo su lavoratori esposti a pesticidi. I dati sui fattori riproduttivi ottenuti dallo studio sui pesticidi furono poi confrontati con i dati del NHANES. Un numero crescente di ricercatori sta rendendo disponibile su Internet i propri questionari o altri strumenti di indagine: questo fa di Internet un'eccellente fonte per acquisire i questionari standard esistenti.

### Visite mediche

Ottenere dati di alta qualità basati su visite ambulatoriali può essere una sfida anche quando si collabora con clinici altamente qualificati. I medici e gli altri operatori della sanità non sono generalmente abituati a fare e interpretare visite ambulatoriali in maniera molto uniforme, ma ciò è essenziale per assicurare qualità a uno studio epidemiologico. L'interpretazione dei risultati clinici di routine, qualitativa (es. pallore cutaneo) e quantitativa (es. ritmo respiratorio), varia tra gli specialisti clinici. Per minimizzare la variabilità da parte di osservatori clinici possono essere prese alcune misure:

- Stabilire criteri clinici uniformi e procedure di validazione clinica

Prima di iniziare lo studio, bisogna stabilire linee guide dettagliate per esaminare ed interpretare i quadri clinici. Le procedure di visita dovrebbero essere valutate da osservatori clinici in un campione preso a random nella popolazione oggetto di studio, prima dello studio definitivo. Per il controllo di qualità, un clinico o un appropriato gruppo di clinici dovrebbe periodicamente valutare i dati clinici per l'interpretazione finale.

- Quando possibile, impiegare misurazioni cliniche quantitative degli effetti patologici

Pressione sanguigna, polso, ritmo respiratorio e temperatura sono esempi di misure cliniche di routine che possono essere ben quantificate e calibrate per mezzo di strumentazioni. Misure semi-quantitative meno efficienti includono: il diametro pupillare, i riflessi delle estremità, la mobilità delle articolazioni, l'andatura, la grandezza del fegato e della milza. Queste misure semi-quantitative dipendono quasi interamente dal consenso fra i clinici partecipanti. Un attento coordinamento tra gli epidemiologi e gli osservatori clinici è assolutamente essenziale per garantire accuratezza e coerenza. Come detto nel Capitolo 8, in ogni studio sono necessarie procedure di formazione anche di clinici qualificati e revisioni di qualità delle procedure di esame fisico dei soggetti.

### Misurazioni fisiologiche

La misura di effetti fisiologici è un altro modo di valutare gli eventi sanitari avversi. Tuttavia, a causa della considerevole intra e inter variabilità che si incontra tra individui e apparecchiature, si dovrebbe tentare in tutti i modi di standardizzare le procedure. Per esempio, nelle misurazioni di funzionalità polmonare, in seguito a esposizione a inquinanti aereodispersi, si osserva una variabilità giornaliera o stagionale usando parametri specifici della funzionalità polmonare, quali il picco di flusso espiratorio e il volume espiratorio forzato (PEFR e FEV<sub>1</sub>) (Dockery and Pope, 1994).

I test di funzionalità polmonare (es. spirometria) sono spesso usati per determinare lo stato di salute respiratoria dei soggetti partecipanti ad uno studio epidemiologico sull'inquinamento dell'aria. Quando viene usata la spirometria per valutare la funzione polmonare (FVC, FEV<sub>1</sub> ecc.), la confrontabilità degli strumenti usati e degli operatori determinerà la confrontabilità dei risultati di studi separati. Per esempio, Green e i suoi collaboratori (1974), in uno studio sulla variabilità delle curve volume-flusso espiratorio massimo, trovarono che i flussi che eccedevano il 70% della capacità vitale variavano fortemente tra gli individui, fatto che fu attribuito allo sforzo individuale nell'esecuzione del test. Sono state pubblicate linee guida per standardizzare le performance dei test polmonari, in modo da poter confrontare i quadri ottenuti dagli studi epidemiologici (ATS, 1995).

I vantaggi o gli svantaggi delle tecniche o attrezzature per ottenere misure fisiologiche devono essere considerati sulla base di:

- accettabilità nello studio di popolazione;
- accuratezza e affidabilità dei risultati ottenuti usando queste misure;
- facilità d'uso e disponibilità di tecnici capaci di usarle.

La sensibilità e la specificità di questi test devono essere determinate: definire cosa rappresenta un falso o un vero positivo o negativo dipenderà dagli standard impiegati.

### Test di laboratorio

Ogni test di laboratorio ha tre proprietà: sensibilità, specificità e valore predittivo. La **sensibilità** si riferisce alla capacità del test di identificare o scoprire un valore biologico o analitico a una qualche concentrazione. La **specificità** si riferisce alla capacità del test di identificare un effetto con interferenza minima rispetto a reazioni o effetti biologici concorrenti. Il **valore predittivo** si riferisce alla capacità del test di determinare la relazione con un effetto specifico sulla salute.

Le tecniche chimico-analitiche sono, in generale, metodi altamente sensibili predisposti per quantificare concentrazioni di un dato prodotto chimico, elemento o materiale biologico (proteine, DNA, lipidi). Le tecnologie analitiche attuali sono altamente specifiche, sebbene manchino di valore predittivo. Per esempio, la sola conoscenza della concentrazione di diossina presente nei tessuti non identifica se un soggetto ha o avrà una condizione di immunodeficienza. D'altra parte, una prova di laboratorio che individua un agente infettivo fortemente associato con una malattia ha specificità e valore predittivo con una sensibilità variabile. Per esempio, l'uso della tecnica western blot, una prova immunologica per individuare l'AIDS, è altamente sensibile, relativamente specifica ed è predittiva per effetti a lungo termine conseguenti all'infezione. L'identificazione all'autopsia per mezzo di una coltura di liquido polmonare di *Yersinia pestis* in associazione con casi multipli di edema polmonare letale non spiegati è altamente specifica, con una sensibilità relativamente bassa e un buon valore predittivo.

### Marcatori biologici

I marcatori biologici possono essere considerati come un tipo speciale di prova di laboratorio, di crescente utilizzo negli studi epidemiologici. I principi di base che li riguardano sono stati descritti nel Capitolo 2. Sono stati identificati biomarcatori per molti e differenti tipi di eventi. Per esempio, biomarcatori per effetti sulla riproduzione sono: ridotto numero di spermatozoi, morfologia alterata di spermatozoi, mutageni nei fluidi corporei, micronuclei e mutazione delle cellule somatiche. I biomarcatori di effetti neurologici includono l'abbassamento della acetilcolinesterasi nel siero e nel plasma e la conducibilità nervosa rallentata nella neuropatia periferica. La misura quantitativa della

formazione di carbossiemoglobina è un marcatore dell'avvelenamento da monossido di carbonio, ma questa misura può fornire dati spuri, a meno che non si tenga conto dell'abitudine al fumo e dello stato di salute respiratorio (vedere la parte relativa al monossido di carbonio al paragrafo 4.1). Lo scambio di cromosomi fratelli (SCE), una misura cellulare del danno e riparazione dei cromosomi, è una misura sensibile semi-quantitativa dell'entità del danno causato da alcuni agenti genotossici (ossido di etilene, stirene), ma è un marcatore non sensibile per altri agenti genotossici, benzene incluso. In termini di valore predittivo non c'è, attualmente, un'evidenza che confermi l'associazione tra un elevato numero di SCE per lungo periodo e un incremento del rischio di cancro.

I biomarcatori di suscettibilità implicano reazioni metaboliche derivate da fattori genetici o ambientali e variabilità di risposta agli stimoli, che influenzano potenzialmente la risposta dell'organo bersaglio all'esposizione ambientale.

### **Marcatori genetici**

I marcatori di danno genetico rientrano in due categorie generali: cellulare e molecolare. La maggioranza dei metodi cellulari usati per gli studi umani richiede una coltura di linfociti umani (la relativamente facile disponibilità di linfociti fa di questi una popolazione cellulare molto importante per le analisi citogenetiche). Poiché il tempo di vita di un linfocita può variare da un periodo di pochi giorni fino a 20 anni, essi possono essere utili per stimare gli effetti di una esposizione a lungo termine a sostanze chimiche, sebbene la riparazione del DNA avvenga abbastanza velocemente. È stato inoltre ipotizzato che, poiché i linfociti sono in contatto con molti tessuti del corpo, essi possano fornire una misura integrata dell'esposizione a sostanze chimiche (Perera *et al.*, 1987). La rottura del singolo filamento di DNA (SSB), è ipotizzata come un buon indicatore del potenziale mutageno o cancerogeno di un composto.

Una prova di migrazione del DNA, la tecnica del Single Cell Gel (SCG), è stata sviluppata come una misura molecolare sensibile di SSB e di siti labili agli alcali del DNA (Singh *et al.*, 1988). Questa prova fa uso della migrazione dei filamenti del DNA dopo lo svolgimento in un campo elettroforetico, come misura del danno genetico risultante da un'esposizione ad agenti attivi geneticamente. Il grado di migrazione è proporzionale all'ammontare del danno del DNA. Il vantaggio della tecnica include la sua sensibilità, la necessità di un campione veramente piccolo (la puntura del dito fornisce una sufficiente quantità di sangue) e il fatto che possono essere monitorate variazioni intercellulari nella risposta. Il test SCG è stato perfezionato e valutato con una varietà di tipi cellulari, da mammiferi diversi, uomo incluso (Singh *et al.*, 1990). Molti composti sono stati identificati come capaci di indurre una vera rottura, quali i perossidi, il fumo di tabacco ecc. Più recentemente, composti quali le aldeidi sono stati identificati come inibitori della riparazione del DNA SSB, attraverso vari meccanismi quali la diminuzione dell'attività degli enzimi riparatori del DNA (Krokan *et al.*, 1990). L'importanza di una inibizione del SSB potrebbe aumentare il tasso di mutazione conseguente a mancata riparazione di una lesione indotta da un altro agente, quale il fumo di tabacco.

La presenza di agenti mutageni nel corpo umano può essere valutata anche saggiando campioni di sangue o di urina con sistemi microbiologici sensibili (Hulka *et al.*, 1990). L'attività mutagena può, inoltre, essere valutata esaminando le feci umane e il latte materno. Indicazioni sull'attività di rottura dei cromosomi possono essere ottenute da colture a breve termine di linfociti del sangue periferico. Altri indicatori di attività genetica includono gli scambi fra cromosomi fratelli nelle cellule ematiche e anomalie morfologiche degli spermatozoi.

Sebbene l'applicazione delle tecnologie di biologia molecolare agli studi epidemiologici sia di grande interesse nella comunità scientifica, è chiaro tuttavia che l'interpretazione dei risultati comporta difficoltà. Di conseguenza, gli scienziati dovrebbero sviluppare linee guida, in collaborazione con la comunità medica e con altri gruppi interessati, per l'uso e l'interpretazione di biomarcatori negli studi epidemiologici. A causa delle difficoltà insite nello sviluppo di appropriati disegni di studi, la praticabilità dei biomarcatori in generale, e specificatamente di quelli molecolari, deve essere valutata attraverso ricerche metodologiche, prima di un loro uso su larga scala negli studi epidemiologici.

### **5.3 Aspetti metodologici nella valutazione degli effetti sanitari**

#### **Validità e affidabilità della misura di esiti sanitari**

L'interpretazione dei risultati ottenuti da studi epidemiologici dipende dalla validità e dall'affidabilità delle misure effettuate (i problemi relativi alla validità e affidabilità sono discussi nel paragrafo 3.4, a cui il lettore può riferirsi per ulteriori informazioni). Per un evento sanitario, la validità è caratterizzata dalla sensibilità (probabilità che una persona malata venga classificata come malata) e dalla specificità (probabilità che una persona sana venga classificata sana).

Per garantire la validità dei questionari sui sintomi, le malattie da misurare devono essere definite accuratamente: i sintomi descritti dovrebbero essere le manifestazioni di tali malattie. L'uso di criteri rigorosi di diagnosi può essere problematico per il fatto che un miglioramento della specificità può ridurre la sensibilità. Se deve essere confrontato l'ammontare di malattia in popolazioni diverse, è essenziale che i livelli di sensibilità e specificità non varino tra le popolazioni.

La validità delle misure registrate da una apparecchiatura è determinata dalla accuratezza con cui è quantificato l'effetto che si intende misurare. L'affidabilità di uno strumento deve essere determinata per mezzo di test frequenti, in cui tutto rimane uguale, eccetto il tempo (prova e controprova). Alcuni strumenti sono o possono essere allestiti per ottenere in contemporanea misure su campioni duplicati (split-half testing). Questo metodo è spesso usato insieme a un questionario in cui domande "identiche" sono ripetute in diverse sezioni.

#### **Variabilità intra-individuale degli effetti**

Gli individui mostrano distinte variazioni nelle funzioni fisiologiche personali che possono essere identificate e misurate (es. valori personali di colinesterasi che variano ora per ora o giorno per giorno, o anche mese per mese, per effetto del grado di esposizione a agenti esogeni o endogeni). Hayes (1982) ha suggerito, per esempio, che in un lavoratore normale non esposto a insetticidi organofosforici si possono attendere variazioni nella colinesterasi eritrocitaria (RBChE) comprese tra 13-25%, e nella colinesterasi plasmatica (PChE) tra 20-23%. Kondo & Ito (1996) hanno studiato la variazione stagionale nel ritmo circadiano delle funzioni polmonari nei bambini con asma. Essi riportarono che esistevano significative differenze stagionali nei valori medi di FEV<sub>1</sub> e, per di più, che c'erano significative differenze stagionali nell'estensione del ritmo circadiano del valore FEV<sub>1</sub>. Così anche lo spettro della variazione giornaliera di una misura fisiologica può variare nel corso delle diverse stagioni. In un altro esempio, Nahm *et al.* (1998) trovarono che esisteva una variazione stagionale in una sottoclasse di anticorpi (IgG4) per gli acari della polvere di casa nei sieri di pazienti asmatici sensibili agli acari. La concentrazione di anticorpi allergenici era più alta in estate e più bassa in inverno (quando è secco), e significativamente correlata con la concentrazione della polvere di acaro allergenica (*Der F 1*) nei letti dei pazienti. Quindi è essenziale essere consapevoli delle variazioni intra-individuali random e sistematiche, quando si registrano delle misure biologiche.

#### **Variazioni inter-individuali**

La variazione della risposta biologica misurata in un individuo e comparata con quella di un altro è conosciuta come variazione inter-individuale. Bisogna tener conto delle variazioni inter-individuali quando si registrano misure biologiche. Per esempio, in una revisione di dieci studi che comparavano gruppi esposti a pesticidi organofosforici (OP) con gruppi di controllo non esposti (Duncan *et al.*, 1986), si è potuto osservare che il coefficiente di variazione (CV) dei valori di PChE inter-personale varia dal 14,9% al 30,7% nei gruppi di controlli non esposti, a causa dei quattro differenti metodi di misura. Non c'era una tendenza particolare tra i metodi di misurazione, e la media del CV era 22,7%, con una deviazione standard di 5,7%. Da questi dati, è chiaro che, mentre la variazione inter-personale è più grande di quella intra-personale, esiste un ampio range di variazione nei soggetti normali.

### **5.4 Effetti sanitari dell'ambiente su organi e apparati**

E' disponibile un gran numero di fonti di informazione per descrivere gli effetti sanitari causati da fattori di rischio ambientali. L'argomento fondamentale di questo libro sono i metodi epidemiologici, per questo verrà presentata solo una sommaria trattazione degli effetti sanitari correlabili

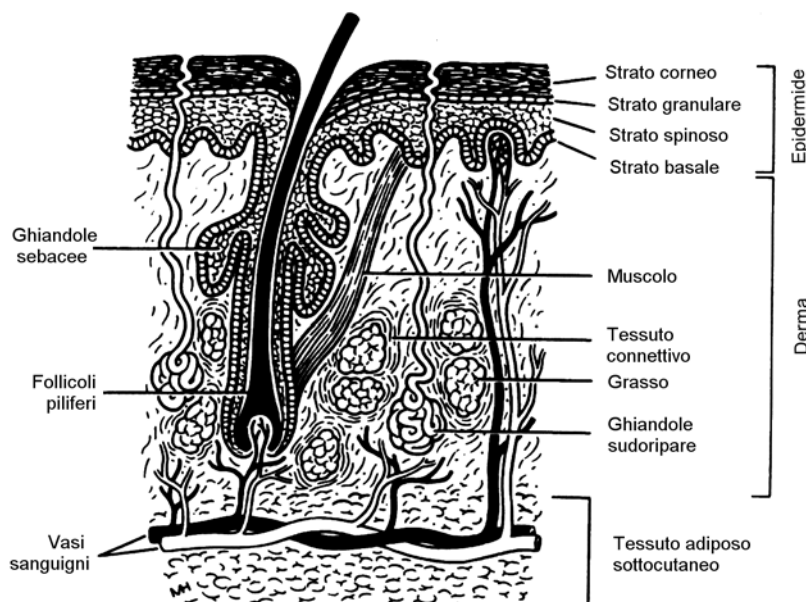
all'ambiente. Per informazioni più dettagliate si rimanda il lettore ad altri fonti (es. Rom, 1998; Rosenstock & Cullen, 1994; Yassi *et al.*, 1998), ulteriori riferimenti sono presenti nel Capitolo 12.

### Cute

La cute, oltre ad essere un bersaglio importante dell'esposizione ambientale, è anche una potenziale via d'entrata nel corpo (Adams, 1990). I componenti principali della cute sono l'epidermide e il derma (vedi Figura 5.4). L'epidermide include lo strato corneo, cioè lo strato più esterno di cellule epidermiche cheratinizzate densamente aggregate, che è lo strato superficiale di cellule morte della cute e rappresenta il deterrente primario all'assorbimento di sostanze chimiche tossiche attraverso la cute stessa. Lo strato corneo si rinnova nell'adulto circa ogni due settimane; è un processo che comporta la disidratazione e la polimerizzazione del materiale intracellulare e si conclude in una cellula secca, sottile, piena di cheratina, e in uno strato biologicamente inattivo di tessuto. Il derma è composto da ghiandole sebacee e sudoripare, vasi sanguigni, tessuto connettivo, capillari e follicoli piliferi. I vasi sanguigni sono distribuiti attraverso le porzioni sub-papillari della cute. Le sostanze tossiche si diffondono più rapidamente attraverso il derma poiché questo rappresenta un ambiente di diffusione acquoso, non selettivo e poroso, e le sostanze tossiche trasfondono da questo tessuto per semplice diffusione nella circolazione sistemica, che è collegata al flusso sanguigno, ai fluidi interstiziali e linfatici. Fortunatamente la natura lipidica di questa struttura è specificamente sviluppata per formare una barriera protettiva contro l'esposizione e l'assorbimento di agenti xenobiotici.

Perché avvenga l'assorbimento percutaneo è necessario che la sostanza chimica passi attraverso lo strato corneo, migri attraverso l'epidermide, il derma e, infine, nel sistema circolatorio. Nel corpo umano, lo strato corneo varia in struttura e composizione chimica da una parte all'altra del corpo stesso e questa differenza si riflette nella permeabilità cutanea. Lo spessore dello strato corneo nell'avambraccio e nell'addome è circa 8-15  $\mu\text{m}$ , mentre nel palmo delle mani e nella pianta dei piedi è circa 400-600  $\mu\text{m}$ . Le sostanze tossiche attraversano facilmente lo strato corneo dello scroto poiché il tessuto è veramente sottile, con una alta permeabilità.

**Figura 5.4** Sezione trasversale della cute umana



Fonte: Wester e Mailbach, 1992

### Malattie cutanee

L'esposizione per via cutanea può causare effetti acuti e cronici. I sintomi acuti includono dolore e prurito, nello stesso tempo i segni sono eruzioni cutanee, eritema e vescicole. Segni di dermatite sono l'eritema e la formazione di vescicole, trasudato e croste. Quando la dermatite diventa cronica aumentano la desquamazione e l'ispessimento della cute.

La dermatite da contatto è un problema sanitario comunemente riportato. Se le lesioni sono confinate in aree esposte del corpo (es. mani, viso), è molto probabile che ne sia responsabile un agente ambientale. Se le lesioni sono distribuite uniformemente sulle superfici esposte, bisogna valutare la possibilità di esposizione ad un agente aereodisperso. Se, d'altra parte, le lesioni sono a chiazze o lineari, si può considerare responsabile un'esposizione a sostanze chimiche, o forse un'esposizione ad una pianta. Per determinare l'agente eziologico, bisogna considerare il tempo di eruzione, la distribuzione delle lesioni e l'associazione delle lesioni con uno specifico tipo di esposizione. I meccanismi allergici causano anch'essi dermatite da contatto. Metalli, quali nichel, mercurio e cromo, oltre a colori, resine e colle, sono antigeni ambientali comuni.

L'ipomelanosi (depigmentazione) deriva dalla perdita di melanociti (ghiandole unicellulari che secercono granuli di melanina nelle cellule epidermiche). La melanina è la principale causa della colorazione della cute, dei capelli e degli occhi. La melanina funziona come filtro che protegge il derma contro gli effetti debilitanti della radiazione solare. L'arsenico inorganico trivalente può produrre ipomelanosi, e questa condizione è un indicatore di numerose condizioni cliniche (es. morbo di Addison, deficienza cronica di proteine, coliti ulcerative, fenilchetonuria e intossicazione arsenicale). La leucoplachia è una condizione precancerosa, caratterizzata da spesse macchie bianche nei tessuti, che si sviluppano nella mucosa delle guance, delle gengive e nella lingua, soprattutto nei fumatori. La cheratosi attinica, una simil verruca o callo che cresce nel tessuto epidermico, è una condizione precancerosa del carcinoma squamocellulare, risultante da una eccessiva esposizione alla radiazione solare.

### **Sistema respiratorio**

La funzione dei polmoni è quella di effettuare lo scambio tra l'ossigeno e l'anidride carbonica. Il tratto respiratorio di un adulto scambia giornalmente circa 5-10 m<sup>3</sup> di aria (Craighead, 1995). Il volume e la superficie del sistema respiratorio aumentano in grandezza dal naso agli alveoli (la regione alveolare è nei polmoni l'area dove l'assorbimento delle sostanze tossiche avviene più rapidamente). Si stima che la superficie respiratoria abbia un'area di 50-70 m<sup>2</sup>. Le cilia si trovano in tutto il nasofaringe e nell'albero tracheo-bronchiale. Il tessuto epiteliale porta il muco dal naso alla faringe, e dai bronchioli, attraverso i bronchi e la trachea, alla faringe.

Gli agenti tossici possono entrare nel sistema respiratorio in forma di particelle (es. polvere, pollini), gas (es. monossido di carbonio, ozono, biossido di azoto), vapori di liquidi volatili o volatilizzabili come il benzene e il tetracloruro di carbonio, o in forma di aerosol (es. goccioline liquide o particelle fini come quelle che sono presenti nei fumi o nel fumo di sigaretta).

Il sistema polmonare affronta un'ampia e complessa miscela di materiali estranei, che possono causare malattia nelle persone esposte. Quando gas e particelle tossiche si muovono attraverso le vie aeree, si producono in maniera rilevante macrofagi e neutrofili che generano citochine, proteasi e composti dell'ossigeno che tendono ad alterare la permeabilità della mucosa e hanno un ruolo nella captazione di gas e particelle da parte del tessuto (Craighead, 1995).

Gli aerosol liquidi possono passare per diffusione attraverso la membrana delle cellule alveolari, se l'aerosol è liposolubile. Quando una sostanza tossica arriva al polmone, è in genere assorbita abbastanza rapidamente a causa della sottile membrana alveolare e dell'abbondanza di sangue, e può quindi passare dal tratto respiratorio inferiore al sito dell'organo bersaglio.

Il diametro e la carica elettrostatica delle particelle influenzano molto il loro movimento nel/e attraverso il tratto respiratorio. La maggior parte delle particelle più grosse (>30 µm) non sono inalate in condizioni normali (esercizio lieve o assente) semplicemente a causa della loro grandezza e peso. Le particelle che passano attraverso il naso (7µm - < 30 µm) sono rimosse dai passaggi nelle narici e all'interno del naso. Gli epiteli sono abbastanza efficienti e rimuovono circa l'80% delle particelle inalate che riescono a passare attraverso le narici. Pertanto, solo le particelle piccole (1-5 µm) rag-

giungeranno i bronchioli e i dotti alveolari. Solo le particelle più fini ( $< 1 \mu\text{m}$ ) raggiungeranno gli alveoli del polmone. Quando le particelle raggiungono gli alveoli, esse tendono a rimanervi, per un periodo che varia da alcune ore a più mesi, fino a quando non intervengono meccanismi di rimozione. Inizialmente, i fagociti digeriscono le particelle insolubili e per mezzo di movimenti ciliari le portano in poche ore alla faringe dove possono essere inghiottite. Le particelle più persistenti vengono eliminate durante un periodo di settimane, mesi o anni.

#### **Effetti sanitari sul tratto respiratorio**

L'inalazione di agenti tossici può causare un ampio spettro di effetti sul tratto respiratorio, che variano da sintomi non specifici, quali respiro corto e costrizione toracica, a malattie più specifiche quali asma bronchiale, enfisema, asbestosi e, tra le altre, adenocarcinoma. La Tabella 5.1 mostra degli esempi di effetti sul tratto respiratorio da esposizione ambientale.

Le proprietà fisico-chimiche degli inquinanti sopra descritte sono importanti perché determinano il luogo e il tipo di reazione all'inquinante del tratto respiratorio. Per esempio, le grosse particelle solide sono filtrate ed espulse dalle cavità nasali, mentre piccole particelle possono raggiungere le vie aeree distali e gli spazi alveolari. Per i gas e i vapori, le particelle idrosolubili tendono ad essere assorbite nelle vie aeree superiori, mentre agenti meno idrosolubili penetrano negli spazi alveolari. Accade quindi che la formaldeide (molto solubile) tende a causare irritazione nel tratto respiratorio superiore, mentre il biossido d'azoto (poco solubile) causa effetti nel tratto respiratorio inferiore.

Alcune reazioni del tratto respiratorio compaiono in maniera acuta, mentre altre si sviluppano lentamente in maniera cronica. Esempi di reazioni acute sono l'irritazione delle mucose, l'aumento della secrezione mucosa, l'ostruzione reversibile delle vie aeree, l'edema polmonare, l'emorragia, le vasculiti e le infezioni. Esempi di reazioni croniche sono l'ostruzione cronica delle vie aeree, l'enfisema, le fibrosi e il cancro.

L'asma, malattia caratterizzata da iperreattività e ostruzione reversibile delle vie bronchiali, è una condizione che mostra una crescente prevalenza nel mondo. In molte regioni approssimativamente l'8-10 % dei bambini ha l'asma. L'asma si associa spesso ad allergia ad uno o più agenti ambientali: particolarmente acari, blatte, peli di animali, erbe e pollini (es., Rosenstreich, 1997). Inoltre l'asma è aggravata dall'esposizione a irritanti, quali il fumo di tabacco e gli inquinanti atmosferici. Le ragioni di questo apparente aumento mondiale nella prevalenza dell'asma sono una delle attuali aree di ricerca degli epidemiologi.

Lo studio delle malattie polmonari utilizza questionari standardizzati, esame fisico e misure fisiologiche della funzione polmonare. Fra i test di funzionalità polmonare, la spirometria è una tecnica affidabile e trasportabile per valutare la capacità respiratoria polmonare ed i flussi respiratori. Molte condizioni polmonari mostrano, con questo esame, quadri caratteristici - per esempio, flussi respiratori ridotti per ostruzione delle vie aeree si hanno nell'asma, nelle bronchiti e nell'enfisema; o volumi polmonari ridotti (quadro ristretto) nelle fibrosi polmonari. Per una valutazione non invasiva del polmone possono essere usate la radiografia del torace e le più avanzate tecniche di immagine. Infine, le analisi laboratoristiche del sangue, quali le concentrazioni di ossigeno e anidride carbonica, possono essere utili per valutare la capacità polmonare di scambio vitale dei gas.



**Tabella 5.1 Effetti sul tratto respiratorio di esposizioni ambientali**

<b>Esempi di esposizione</b>	<b>Tipo di effetto</b>
Formaldeide, ossidi di zolfo e altri gas e vapori altamente solubili e irritanti	Irritazione acuta del tratto respiratorio
Acroleina, aldeidi, cloro, ossidi d'azoto e altri gas insolubili	Lesioni acute del tessuto polmonare (bronchiolite ostruttiva, edema polmonare)
Reazioni allergiche a acari, blatte, pollini, sostanze chimiche	Asma
Inalazione cronica di vapori irritanti, fumo di tabacco	Malattie polmonari ostruttive (enfisema, bronchiti croniche)
Inalazione cronica di polveri minerali	Pneumoconiosi (es. asbestosi, silicosi) e tipi correlati di fibrosi del tessuto polmonare
Tubercolosi, legionelle e altri agenti biologici	Polmoniti e altre infezioni del tratto respiratorio
Reazioni allergiche all'interno del polmone da batteri termofili, funghi, proteine animali	Polmoniti da ipersensibilità
Berillio	Granuloma nel tessuto polmonare
Particolato respirabile urbano	Ospedalizzazione e mortalità per cause respiratorie e cardiovascolari
Asbesto, radon, fumo di tabacco	Cancro polmonare

### **Sistema nervoso centrale e periferico**

Le esposizioni ambientali a neurotossine nei luoghi di lavoro, in caso di fuoriuscite accidentali di sostanze chimiche durante la distribuzione o applicazione, o in seguito a pratiche improprie di immagazzinamento e di smaltimento, rappresentano un rischio significativo per la salute pubblica (Aldrich & Griffith, 1993). Gli agenti neurotossici possono essere classificati secondo la loro attività per sede anatomica. Per esempio, tossine specifiche possono causare danni a:

- guaina mielinica, aggredendo gli oligodendrociti o le cellule di Schwann;
- tessuti selettivi del sistema nervoso centrale (SNC);
- neuroni e astrociti (della materia grigia) come conseguenza di anossia;
- assoni di neuroni periferici;
- giunzioni sinaptiche del sistema neuromuscolare;
- pericarion dei neuroni periferici.

Il sistema nervoso centrale (SNC) è relativamente protetto dalle numerose sostanze tossiche grazie alla barriera ematoencefalica (BBB, blood brain barrier). La BBB esiste nel parenchima del cervello e nel plesso corioideo, ad eccezione di un'area del cervello particolarmente sensibile ai cambiamenti nei componenti del fluido extracellulare (area ipotalamica). La BBB è altamente permeabile all'acqua, all'anidride carbonica e all'ossigeno; moderatamente impermeabile agli elettroliti, quali sodio, cloro e potassio; e quasi totalmente impermeabile ai metalli quali arsenico, zolfo e oro. Sebbene la barriera ematoencefalica non abbia il controllo assoluto sul passaggio di materiale tossico nel SNC, essa rappresenta una condizione di minore permeabilità rispetto alla maggioranza delle altre aree corporee.

I neuroni in alcuni tessuti (es. gangli del midollo spinale e gangli autonomi) del sistema nervoso periferico (SNP) sono suscettibili alle sostanze tossiche che si insinuano attraverso gli spazi tra le cellule epiteliali. Il danno neurologico deriva dalla penetrazione selettiva di sostanze chimiche tossiche attraverso le barriere protettive del SNC e del SNP in sedi anatomiche specifiche. I danni più gravi (e irreversibili) avvengono con la morte del neurone, dato che la cellula differenziata non può dividersi per essere rimpiazzata. Quando muore il neurone, altre cellule con le stesse funzioni sono in grado di sostituire le cellule morte (per fortuna il sistema nervoso è pieno di funzioni ridondanti), o altri neuroni possono acquisire le funzioni necessarie. Se fallisce questo meccanismo di riparazione si mani-

resta una perdita di funzione in rapporto alla gravità dell'insulto tossico. Generalmente, dopo un insulto neurotossico, avviene il recupero di alcune funzioni. Quando non interviene la morte cellulare, il recupero avviene velocemente (dopo che l'agente tossico è stato metabolizzato) o comunque dopo che la rigenerazione biologica ha avuto luogo. Quando avviene la morte neuronale, il recupero può avvenire in un tempo più lungo, oppure mai.

#### **Effetti sanitari sul sistema neurologico**

Esempi di condizioni neurologiche acute che possono essere causate da esposizione ambientale ad alte dosi sono: l'encefalopatia, conseguente a esposizione a piombo, la cecità, a seguito di ingestione di metanolo e le convulsioni e la paralisi respiratoria dovute a esposizione a pesticidi organofosforici. Sono stati ben documentati eventi epidemici di malattie neurotossiche dovute a contaminazione ambientale. Per esempio, il consumo di pesce contaminato con metil mercurio a Minamata, in Giappone, e di grano trattato con fungicida in Iraq, ha avuto come conseguenza la cecità e l'atassia. Il consumo, in Marocco, di olio da cucinare contaminato da tri-o-cresilfosfato (TOCF) ha prodotto degenerazione del midollo spinale e neuropatia periferica (Landrigan *et al.*, 1994). I sintomi di avvelenamento da pesticidi includono irritazione della pelle e degli occhi, miosi, visione offuscata, mal di testa, anoressia, nausea, vomito, aumento della lacrimazione, aumento della salivazione, diarrea, dolori addominali, leggera bradicardia, atassia, contratture e debolezza muscolare, e debolezza generalizzata dei muscoli respiratori.

Il coinvolgimento del SNC viene segnalato da vertigini, ansietà, agitazione, sonnolenza, difficoltà di concentrazione, poca memoria, confusione, convulsioni, coma con assenza di riflessi, alterazioni dell'EEG, specialmente in iperventilazione, respirazione di Cheyne-Stokes, depressione dei centri respiratori e circolatori con dispnea, cianosi e abbassamento nella pressione sanguigna. Nello stadio avanzato delle intossicazioni più gravi, i sintomi possono progredire dalla respirazione difficile e faticosa fino alla perdita del controllo muscolare, convulsioni ed eventualmente morte (Griffith & Duncan, 1985).

Segni e sintomi clinici di danno neurologico (es. nistagmo, tremore, parestesia, segni focali) possono essere spesso trovati alla visita, o esaminando la storia medica del paziente, o richiedendo al paziente di completare un questionario medico. Per esempio, i lavoratori esposti a diaminopropionitrile (DAPN, un catalizzatore usato nella produzione di gomma espansa) riportarono di soffrire di sintomi da infezione del tratto urinario. Fu effettuata un'indagine per identificare il processo nocivo e il probabile agente chimico; l'indagine clinica rivelò che i sintomi erano dovuti a vescica neurogena indotta chimicamente.

Per individuare gli effetti neurologici, clinici e sub-clinici, causati da una varietà di sostanze chimiche, come i solventi, i pesticidi ed i metalli pesanti, può essere richiesta la competenza di un neurologo o di uno specialista di test neurocomportamentali. I test per le neuropatie periferiche, per esempio, possono avere bisogno di apparecchi per misurare la velocità di conduzione dei nervi. Le funzioni sensoriali possono essere valutate determinando la soglia di vibrazione e di temperatura. Altri mezzi includono l'elettromiografia e i potenziali evocati. Molti progressi sono stati fatti nelle tecniche per testare le disfunzioni neuropsicologiche. Per esempio, batterie di test standard sono state sviluppate e validate usando popolazioni standard. Recentemente molti di questi test sono stati adattati per essere somministrati con il computer: per esempio, i test sui riflessi e sulla coordinazione visivo-spaziale. I vantaggi dei test basati sul computer è che essi richiedono minor tempo di addestramento per lo staff dello studio ed hanno minore variabilità (e di conseguenza una migliore attendibilità) dei test somministrati dallo staff.

#### **Sistema gastro-intestinale**

La funzione primaria del tratto digestivo è quella di convertire le fonti di nutrimento nelle forme assimilabili di proteine, grassi e carboidrati, vitamine e minerali essenziali per sostenere e mantenere l'organismo. Ha anche la funzione di mantenere il bilancio elettrolitico e di espellere i prodotti di rifiuto. Al di fuori di queste funzioni fisiologiche, il tratto digestivo è la maggior sorgente di assorbimento dei

tossici derivanti dalle molteplici fonti ambientali. Per esempio, nella dieta giornaliera, le persone possono essere esposte a tracce di metalli tossici come l'arsenico nell'acqua o nei molluschi, a grano contaminato con tossine fungine ed a prodotti alimentari contaminati con pesticidi o tossine biologiche.

Gli effetti sulla salute da misurare possono essere acuti, subacuti o cronici. Per un effetto acuto, quale la diarrea, l'identificazione dell'organismo infettante o della tossina biologica diventa l'obiettivo della sorveglianza epidemiologica nella popolazione affetta (es. infezioni da salmonella trasmesse con gli alimenti). Effetti cronici, quali un cancro esofageo in associazione con l'esposizione ad aflatossina o il cancro del colon associato a oli da taglio, sono esiti finali misurabili. Biomarcatori, come la misura di mutazioni di p-53 e marcatori cromosomici, possono essere utili aggiunte. Il test del sangue occulto nelle feci può essere usato per un programma di sorveglianza su larga scala.

### **Fegato**

Tutto quanto viene assorbito dall'intestino passa attraverso il fegato per essere metabolizzato. In tal modo, alimenti, medicinali e xenobiotici ingeriti sono attivati, trasformati e detossificati nel parenchima epatico. Analogamente, le sostanze chimiche, non importa se inalate o assorbite attraverso la pelle, trovano la loro via verso le cellule epatiche, attraverso la fitta rete vascolare che permea il fegato. Nei processi di detossificazione, la maggioranza dei tossici sono convertiti in prodotti di rifiuto meno tossici solubili in acqua, per essere escreti nella bile o dai reni. Alcune sostanze tossiche quali alcool, aflatossine, solventi industriali e N-nitrosamine, tuttavia, sono convertite nelle loro forme più letali o nocive. Inoltre l'abilità delle cellule epatiche a manipolare sostanze tossiche è guidata geneticamente, grazie a una serie di enzimi microsomiali epatici, che includono il gruppo del citocroma P-450 e che spiegano le variazioni inter-individuali nella suscettibilità agli effetti delle sostanze tossiche. L'attività degli enzimi e il modello di detossificazione possono essere alterati da xenobiotici quali i policlorobifenili (PCB). Infine, il fegato è un organo bersaglio, fonte di effetti tossici, e centro focale della detossificazione per la maggioranza delle sostanze organiche che richiedono una trasformazione metabolica. Gli agenti infettivi, compresi l'epatite B e gli Schistosomi parassiti, possono giocare un ruolo nella suscettibilità del fegato alle sostanze tossiche, in relazione a effetti sulla salute a lungo termine come l'epatocarcinoma, l'angiosarcoma e la cirrosi.

All'osservazione clinica una malattia epatica spesso si presenta con ittero e con sintomi da deficienza epatica, incluso l'offuscamento della conoscenza e altre disfunzioni neurologiche. A questo stadio della malattia epatica sono state perse circa il 50% o più delle funzioni epatiche normali. Una epatite acuta causata da avvelenamento da funghi o da ingestione di certi farmaci in un ospite suscettibile, e/o una epatite infettiva, possono produrre questi effetti clinici come evento precoce, ma molte malattie epatiche rimangono clinicamente silenti per molti anni. La loro scoperta dipende quasi interamente dagli esami e dalle analisi di laboratorio. I test routinari quali la misura dell'attività degli enzimi sierici (es. aspartato amminotransferasi, alanina amminotransferasi e gamma glutammil transferasi), dell'albumina, del tempo di protrombina, e dei livelli di bilirubina, possono essere usati per scoprire il danno epatico prima dei segni clinici di malattia. Nei test più sofisticati per gli effetti specifici dei tossici ambientali, la misura dell'attività enzimatica del P-450 (PCB e altri xenobiotici policlorurati), la scoperta di mutazioni del P-450 (aflatossina), l'analisi dei residui tossici nei tessuti (sostanze policlorurate, compresi i PCB e le diossine) sono fra le misure che indirizzano ad un particolare pericolo chimico ambientale.

### **Sistema renale**

Alcune sostanze chimiche industriali, prodotti farmaceutici, preparazioni di erbe, tossine biologiche e metalli pesanti sono tossici renali, sia per una tossicità renale diretta che indiretta, attraverso la distruzione chimica dei globuli rossi circolanti, o a causa di un processo autoimmune. La funzione primaria del rene è quella di filtrare il sangue e di rimuovere i prodotti di rifiuto. Una funzione secondaria è la produzione di ormoni, quali l'eritropoietina. Anatomicamente il rene è suddiviso in glomeruli e tubuli. I glomeruli sono formati da un letto capillare fortemente avvolto e intrecciato che serve per la funzione di filtrazione. Parte del filtrato - proteine intatte e sali - è riassorbito dal sangue; un'altra parte - prodotti di rifiuto soprattutto della degradazione delle proteine - viene escreti. I tubuli

renali sono composti da epitelio che svolge le funzioni di escrezione e riassorbimento tubulare. Una o più di queste strutture anatomiche sono il bersaglio di specifici tossici renali. Per esempio, i sali inorganici di mercurio, di piombo e cadmio, esercitano il loro effetto tossico specialmente sul tubulo prossimale del rene. Ne risulta pertanto una nefropatia con perdita di proteine conseguente al mancato riassorbimento.

Una significativa esposizione a solventi può portare, con un processo autoimmunitario, alla generazione di una membrana basale anticorpale antiglomerulare. Ne risulta pertanto un accumulo di prodotti di rifiuto nel sangue conseguente alla riduzione della filtrazione glomerulare. La necrosi tubulare con connessa perdita di funzioni è una possibile conseguenza di una esposizione a solventi clorurati. Analogamente, una ingestione di glicole etilenico produce tossicità tubulare, con formazione di depositi cristallini di urati nel lume tubulare. Poiché la riserva funzionale del rene è elevata e può essere, inoltre, compensato il danno con l'ipertrofia, spesso la manifestazione clinica della malattia avviene tardi nel decorso. Per questa ragione, l'evidenza epidemiologica avviene attraverso la scoperta laboratoristica delle anomalie. Campioni routinari di urina possono essere esaminati per la presenza di proteine, glucosio, costituenti cellulari abnormi e per densità specifica. La misura della densità specifica urinaria fornisce una semplice valutazione dell'abilità dei tubuli renali a concentrare o diluire i prodotti di rifiuto. La presenza di proteine nelle urine non è normale. Il ritrovamento della proteina  $\beta$ -2 macroglobulina può essere usato per determinare l'entità della disfunzione renale dovuta all'esposizione a cadmio. Il glucosio urinario, mentre routinariamente è usato come screening per il diabete, è anche usato per misurare sottili cambiamenti nella funzione tubulare renale.

La scoperta al microscopio di eritrociti, l'eccesso di leucociti e di un complesso di proteine o di detriti cellulari fornisce indicazioni di una malattia renale acuta e cronica. La malattia renale cronica può essere un fattore di tossicità chimica globale, a causa dell'alterazione della cinetica di escrezione dei tossici. Una più approfondita stima delle funzioni renali si effettua esaminando il tasso di filtrazione glomerulare, mediante la clearance della creatinina, e la funzione tubulare, misurando l'escrezione dell'acido para-ammino ippurico (PAI). In epidemiologia, la clearance della creatinina ed i livelli di creatinina si utilizzano insieme all'analisi dei metaboliti urinari di sostanze chimiche tossiche, per fornire informazioni sul tasso di escrezione dei tossici. La secrezione tubulare può essere misurata per mezzo del PAI, ma non è facilmente eseguibile al di fuori di un ambiente clinico.

### **Sistema ematopoietico**

Il sangue, le cellule sanguigne periferiche e le cellule progenitrici del midollo osseo sono i componenti del sistema ematopoietico. Le funzioni primarie di questo sistema sono l'ossigenazione del sangue (eritrociti), la coagulazione (piastrine, fattori coagulanti del sangue quali la protrombina, la tromboplastina), il controllo e la prevenzione delle infezioni (neutrofili, monociti, macrofagi, linfociti), l'immunità e la prevenzione tumorale (linfociti, macrofagi, monociti) e la risposta allergica (linfociti, cellule mononucleari, mastociti, basofili). Ciascuno degli elementi figurati (cellule) e non (es. proteine della coagulazione) reagiscono rapidamente alle minacce ambientali all'omeostasi. Questo sistema è la prima linea di risposta dell'organismo ospite ad agenti chimici o biologici.

Le radiazioni ionizzanti sono una fonte ben conosciuta di danno al sistema ematopoietico. In una fase acuta, il danno da radiazione produce una grave linfopenia e colpisce l'ematopoiesi in generale. Gli individui coinvolti sono altamente suscettibili all'infezione, peraltro la più comune causa di morte nel danno acuto significativo da radiazione. Nel lungo periodo, le persone sono a rischio di sviluppare cancro, particolarmente leucemia e cancro tiroideo.

Il piombo e altri metalli pesanti possono indurre anemia. Il benzene causa un'anemia aplastica in cui sono colpiti entrambi i precursori degli eritrociti e dei leucociti. Gli agenti ossidanti, come il naftalene, possono produrre metaemoglobinemia. Le persone con deficit di glucosio-6-fosfatasi (G-6-PD) sono particolarmente sensibili all'effetto ossidante. L'esposizione per lungo tempo a benzene è stata associata con un rischio elevato di leucemia e il 2,4-D (un erbicida) è stato associato ad un rischio di linfoma non-Hodgkin.

Quando la capacità di trasportare ossigeno da parte del sangue è compromessa, come nel caso di produzione di carbossiemoglobina da parte del monossido di carbonio e di metaemoglobina dai nitriti, il risultato è il danno cellulare, la morte neuronale e, infine, se l'intossicazione è sufficientemente grave, il coma e la morte dell'individuo.

Riassumendo, il sistema ematopoietico è sensibile alle aggressioni tossiche ambientali a diversi livelli. È, inoltre, una matrice accessibile per indagare sui tossici ambientali. La misurazione routinaria dei parametri di laboratorio (conta delle cellule bianche e rosse e analisi morfologica di uno striscio di sangue periferico) fornisce ai ricercatori un semplice sistema di indagine biologicamente sensibile.

### **Sistema immunitario**

Il sistema immunitario è la prima difesa dell'ospite contro le infezioni, la formazione di tumore e la rimozione di sostanze estranee. Esso è una difesa mobile basata sulla risposta cellulare e una formazione di anticorpi umorali capace di costante ricerca e di protezione per ogni sistema e organo. In termini di effetti sanitari, i tossici ambientali possono sovraregolare il sistema (immunostimolazione), per esempio le particelle di polvere, o sottoregolarlo (immunosoppressione), per esempio le diossine. Essi possono, inoltre, produrre una disregolazione immunitaria in forma di allergia (per esempio il toluene diisocianato), autoimmunità (sali di mercurio) e risposta tissutale granulomatosa (per esempio asbestosi e berilliosi). Forme più fini di disregolazione immunitaria implicano cambiamenti nella proporzione dei componenti cellulari (linfociti T e B) e delle sottopopolazioni specifiche di linfociti (linfociti T helper/killer), indebolendo perciò l'abilità dell'organismo a rispondere all'infezione o alla cancerogenesi (es. AIDS). La probabilità di un rischio di effetti sanitari nocivi dovuti agli immunotossici è moderata dallo stato di salute personale (es. abitudine al fumo) e da abitudini lavorative (uso di dispositivi protettivi personali), e dal background genetico dell'individuo. Per esempio, persone atopiche (persone con una storia familiare di disordini allergici) hanno un aumentato rischio di asma da esposizione ad aerosol di immunointossici (polveri, muffe).

Il contatto cutaneo con immunotossici allergici (es. metalli quali il nichel o alcuni filtri solari contenenti parabene) produrrà un rischio aumentato per dermatiti allergiche da contatto. Analogamente, le persone con tipi tissutali geneticamente differenti (HLA) variano per gruppo etnico e può variare la suscettibilità per le malattie autoimmuni (es. spondilite anchilosante, una forma di artrite).

Il supporto laboratoristico per indagare sulla immunotossicità può essere abbastanza complesso, coinvolgendo la quantificazione delle sub-popolazioni di cellule T e B, la tipizzazione dei tessuti e la risposta cellulare in vitro agli immunogeni. Molti esami di routine possono includere la conta dei leucociti, con misure quantitative dei livelli di immunoglobuline e test clinici di potenziali immunogeni.

### **Sistema riproduttivo**

Gli scienziati per anni hanno creduto che lo sviluppo dell'embrione fosse abbastanza al sicuro dagli insulti ambientali, poichè protetto dalla barriera uterina. Gli effetti dannosi della radiazione intrauterina sullo sviluppo del feto furono ben documentati agli inizi degli anni '30, e dal 1941 fu osservato come il virus della rosolia causasse malformazioni sui neonati di madri che erano state esposte durante la gravidanza (Gregg, 1941). Nel 1961, la tragedia del talidomide dimostrò che lo sviluppo del feto non era esente da potenziali insulti dovuti ad agenti esogeni (McBride, 1961; Lenz, 1962). Con la scoperta di un cluster di malformazioni del sistema nervoso centrale nei neonati nella baia di Minamata, in Giappone, negli anni '50 fu stabilito il legame tra la contaminazione ambientale e gli esiti negativi sulla riproduzione (WHO, 1990). Le preoccupazioni sui potenziali effetti riproduttivi associati a esposizione ambientale sono aumentate nel corso dell'ultimo decennio a seguito dell'esposizione causata dagli incidenti di Seveso, in Italia, (Lancet, 1981; Bertazzi *et al.*, 1992) e di Love Canal (Vianna & Polan, 1984). Sebbene sia stato ritenuto che effetti dannosi sulla riproduzione potessero essere collegati a questi incidenti, non è stato possibile stabilire una chiara connessione tra l'esposizione e gli esiti sulla salute.

Altro aspetto di interesse è la maggiore suscettibilità del feto durante lo sviluppo e nella prima infanzia all'esposizione ambientale, dovuta principalmente al rapido tasso di crescita e di differenziazione cellulare ed allo sviluppo di strutture complesse, quali il sistema nervoso centrale. Gli agenti ambientali possono esercitare la loro azione durante il ciclo riproduttivo in diversi momenti, prima o durante il concepimento, prima dell'impianto, durante l'embriogenesi (primo trimestre), o durante il periodo della successiva crescita e sviluppo fetale (secondo e terzo trimestre). Gli effetti degli insulti ambientali sul neonato o sul bambino possono provocare una vita di malattia, disabilità e difficoltà nella riproduzione, impegnando pesantemente le risorse sanitarie già scarse. In più, a fronte di una morbosità clinicamente evidente, è sconosciuto il numero di effetti causati da bassi livelli di esposizione cronica ad alcuni agenti. Molta di questa morbosità infantile può essere prevenuta tramite l'identificazione precoce e la correzione dell'esposizione pericolosa.

I possibili effetti dannosi per la riproduzione che possono potenzialmente derivare da una esposizione ambientale sono diversi e variano, per quanto riguarda la gravità, da effetti leggeri e transitori (come menorrea temporanea) a condizioni altamente letali (come i disordini cromosomici maggiori). La Tabella 5.2 presenta alcuni dei presunti effetti dannosi che possono essere osservati. La lista non è un elenco completo di tutti quelli possibili; piuttosto essa rappresenta alcuni degli esiti clinicamente più significativi, che possono risultare da una esposizione a fattori ambientali.

**Tabella 5.2 Potenziali effetti dannosi alla riproduzione**

---

1	Ritardo al concepimento/infertilità (anomalie spermatiche, disordini mestruali o di ovulazione).
2	Disfunzioni sessuali (diminuzione della libido, impotenza).
3	Aborto spontaneo (interruzione della gravidanza prima della 28° settimana).
4	Mortalità del feto (perdita del feto dopo la 28° settimana di gravidanza).
5	Mortalità neonatale (morte del bambino fino a 28 giorni di età).
6	Basso peso alla nascita (parto prematuro, crescita fetale ritardata).
7	Singola mutazione genica (mutazione dominante letale, disordini Mendeliani, altre condizioni fenotipicamente manifeste).
8	Anormalità/aberrazioni cromosomiche (aneuploidia, disordini da mancata disgiunzione, rotture, delezioni).
9	Malformazioni congenite (difetti singoli, sindromi o associazioni di malformazioni multiple).
10	Sviluppo disabile.
11	Tumori infantili.

---

*Fonte: Aldrich & Griffith, 1993.*

Gli inquinanti ambientali possono avere un ruolo relativamente piccolo nell'eziologia della maggior parte di queste condizioni. Per esempio, le malformazioni congenite causate da esposizioni ambientali quali quelle da farmaci, sostanze chimiche e radiazioni ionizzanti si aggirano tra il 5 - 8 % (Oakley, 1986). Nella maggior parte (65-70%) dei casi di anomalie congenite la causa è sconosciuta. È comunque importante riconoscere che un gran numero di questi esiti sono collegati tra di loro, spesso in maniera altamente complessa, e che questi rapporti possono essere influenzati dalla natura, dalla durata e dall'intensità dell'esposizione. Per esempio, l'esposizione a radiazioni ionizzanti durante il periodo dell'organogenesi può produrre malformazioni fetali, mentre un'esposizione più tardiva in gravidanza può essere collegata ad alcuni tumori maligni infantili. Una dose di radiazioni a basso livello (es. < 5 rad), durante il primo trimestre, può non produrre effetti dannosi apparenti; una dose ad alto livello può causare anomalie fetali, mentre un livello estremamente alto può provocare aborti spontanei.

Numerose sostanze chimiche e agenti fisici (2,4,5-T, dibromocloropropano, radiazioni ionizzanti e non ionizzanti, calore, rumore) sono stati associati a effetti riproduttivi avversi nell'uomo. Nella tabella 5.3 sono elencati alcuni dei maggiori agenti occupazionali e ambientali associati a effetti dannosi per la riproduzione.

**Tabella 5.3 Agenti ambientali implicati nella comparsa di esiti riproduttivi sfavorevoli**

<b>Esposizione</b>	<b>Effetti conosciuti o sospettati</b>
Composti anestetici	Infertilità, aborto spontaneo, malformazioni fetali, basso peso alla nascita
Antineoplastici	Infertilità, aborto spontaneo
Dibromocloropropano	Anormalità dello sperma, infertilità, microcefalia, anormalità cromosomiche, tumori maligni infantili
Piombo	Infertilità, aborto spontaneo, anomalie nello sviluppo
Manganese	Infertilità
Mercurio organico	Anomalie nello sviluppo, anormalità neurologiche
Solventi organici	Malformazioni congenite, tumori maligni infantili
PCB, PBB	Mortalità fetale, basso peso alla nascita, anomalie congenite, anomalie nello sviluppo

*Fonte: autorizzato da Aldrich & Griffith, 1993.*

## **5.5 Cancro**

Una discussione approfondita sulla cancerogenesi sarebbe complessa e ampia, così come è la trattazione delle cause da una prospettiva ambientale (Doll & Peto, 1981; Schottenfeld and Fraumeni, 1996). Questa analisi ha il solo scopo di fornire al lettore alcuni concetti chiave inerenti la cancerogenesi, e fornire basi per ulteriori letture.

Da molto tempo è noto che il processo di cancerogenesi avviene a livello cellulare (molecolare). Tuttavia, solo attraverso recenti avanzamenti nella biologia molecolare si è iniziato a comprendere il processo. Moolgavkar (1981) per primo propose la teoria del processo di cancerogenesi a due stadi e coniò i termini di iniziazione e promozione. L'iniziazione è la trasformazione di una cellula benigna o innocua in una con un potenziale di crescita maligno. Tuttavia, l'iniziazione è distinta dall'evento che provoca crescita cellulare rapida e capacità di metastatizzare.

Recentemente, la scoperta di un materiale genetico che può passare dal genitore al figlio con la potenzialità di provocare il cancro (oncogene), e la mappatura genetica dei siti fragili sul genoma, hanno aumentato la comprensione generale della cancerogenesi. È stato ipotizzato che la cancerogenesi preveda che avvengano una serie di eventi cellulari e che alcuni di questi eventi possano richiedere una sequenza specifica per essere efficaci. Per esempio, per il cancro familiare della mammella (Hall *et al.*, 1990), e forse per il cancro del colon (Kinzler *et al.*, 1991), sono stati localizzati nel genoma i geni specifici che devono essere attivati, così come la successiva perdita di regolazione di questi geni. In entrambi i casi, per il processo della malattia sono necessari cambiamenti genetici aggiuntivi, che favoriscono la sopravvivenza e la crescita cellulare, sebbene la esatta sequenza di questi eventi di sostegno non sia così cruciale come quella che coinvolge i *loci* dei geni chiave.

Per gli scopi dell'epidemiologia ambientale è necessario riconoscere la natura genetico-cellulare della cancerogenesi e l'interazione di forze molteplici nel completamento della cancerogenesi stessa. Per esempio, sebbene il ruolo giocato dai virus nella cancerogenesi non sia ben conosciuto, esso è ormai accettato per parecchi tipi di cancro (cancro della cervice, cancro del fegato, cancro del nasofaringe e malattia di Hodgkin).

### **Fattori genetici**

Clastogenesi significa letteralmente danno cromosomico. Il danno cromosomico prende la forma di delezioni, rotture, gaps, riarrangiamenti tipo anelli, dicentrici, figure multiradiali e frammenti acentrici. I gap sono definiti come una regione acromatica dentro un cromatidio minore della larghezza del cromatide. Le delezioni in una preparazione non a bande sono delle regioni non colorate in un cromatide, più grandi della larghezza del cromatide. Le rotture sono una discontinuità in un cromatide o in un cromosoma che è disallineato. Anelli, dicentrici, figure radiali e frammenti acentrici risultano dagli scambi dentro o tra i cromatidi.

Analogamente, l'evento mutazionale, di addizione o delezione, è una via ormai accettata di trasformazione genetica potenzialmente rilevante per il rischio di cancro (iniziazione). Gli agenti ambientali possono essere definiti come mutageni, clastogeni e mitogeni (es., stimolanti la divisione cellulare). A questi concetti di danno cellulare si devono aggiungere quelli relativi ai processi di riparazione e di regolazione (Weinstein, 1991). Sebbene le cellule siano abbastanza efficienti nella riparazione, questa capacità varia nella popolazione umana.

### **Detossificazione**

L'abilità di detossificare le sostanze chimiche entrate nel corpo è altamente variabile tra le persone. Il fegato agisce come una prima difesa per il rischio chimico. L'organismo preferisce rimuovere o detossificare una sostanza chimica pericolosa combinandola con il glutatone in un processo conosciuto come coniugazione. Tuttavia, le riserve di glutatone del corpo sono limitate e vengono così richieste vie alternative di detossificazione. Alcune di queste sono meno efficienti di altre, così che possono prodursi errori. Questi errori possono rendere una sostanza chimica più tossica anziché meno tossica, una volta metabolizzata.

Un esempio di questo errore è mostrato dall'attivazione del cloruro di vinile nel suo metabolismo. Quando un processo alternativo di detossificazione alternativo alla coniugazione viene coinvolto per il cloruro di vinile, gli enzimi iniziano il processo di rottura della molecola. Tuttavia, poiché questo processo è inefficiente, il processo di rottura può essere incompleto e la molecola di cloruro di vinile parzialmente metabolizzata rimane in forma di epossido iper-reattivo (un agente molto più pericoloso). L'eossido richiede una sostanza chimica per stabilizzare la sua reattività e si legherà facilmente con il DNA. Questo legame col DNA è un evento che può produrre una mutazione. Il cloruro di vinile è considerato un pro-cancerogeno dal momento che richiede un'azione dovuta ad un errore iniziale del processo di detossificazione per divenire un cancerogeno. Un processo analogo è quello per cui un agente può trasformare le cellule e promuoverne la crescita. Gli agenti possono essere definiti iniziatori o promotori, a seconda del loro modo di agire a livello cellulare. Alcuni agenti hanno entrambe le capacità (es. fumo di sigarette), per questa ragione sono definiti cancerogeni completi.

Il cancro non è semplicemente una malattia, ma è comunemente considerato come l'insieme di oltre 100 malattie. Questa definizione deriva dal fatto che sono circa quaranta i siti anatomici dove il cancro colpisce e numerosi i tipi cellulari che sono presenti in questi siti. Alcuni tipi di cancro sono studiati più di altri, generalmente quelli più comuni, ma si ritiene che anche le eziologie di cancro siano abbastanza ben stabilite.

### **Epidemiologia del cancro**

Il cancro è una malattia storica: esso è stato osservato nell'antico Egitto e in Grecia (Shimkin, 1977). Sono stati trovati anche scheletri di dinosauri affetti da cancro. Tuttavia, il cancro emerge come un problema di salute pubblica nella metà del ventesimo secolo. L'emergere del cancro come causa primaria di morte è legato strettamente all'eradicazione delle malattie infettive come maggior causa di morte e al prolungamento dell'attesa di vita. Le malattie cardiache, il cancro e gli accidenti vascolari sono tutte malattie dell'invecchiamento e queste cause di morte sono aumentate parallelamente all'incremento dell'attesa di vita ed alla caduta delle cause di morte acuta (Bailar and Smith, 1986).

I tassi di cancro sono cambiati nel corso di questo secolo (Figura 5.3 e 6.3). Il più espressivo trend secolare è l'aumentato tasso di morte per cancro polmonare e il declino della mortalità per cancro uterino, epatico e dello stomaco. Dal 1960, i quattro maggiori siti di cancro sono stati il polmone, la mammella, il colon-retto e la prostata. Il cancro al polmone è arrivato ad avere un forte impatto, tanto che le pubblicazioni scientifiche hanno iniziato a riportarne l'andamento separatamente dagli altri tipi di cancro (SEER, 1989; Davis *et al.*, 1990).

Oggi l'andamento di cancro nei paesi in via di sviluppo è molto simile a quello presente negli anni 1930-35 nei paesi sviluppati (fegato, stomaco e utero, come tipi di cancro predominanti). Da quando questi paesi hanno iniziato ad essere più urbanizzati, industrializzati e occidentalizzati, l'andamento



del cancro è cambiato, riflettendo quello dei paesi più sviluppati. Questi cambiamenti, insieme agli studi sull'andamento di cancro negli immigrati, sono alcune delle evidenze più forti per poter asserire che la maggior parte dei tipi di cancro deriva da fonti ambientali in senso lato, compresi quindi lo stile di vita, la dieta e l'ambiente domestico.

Segue una breve trattazione sulla epidemiologia generale di diversi tipi di cancro.

**Cancro del polmone.** È la causa principale di morte negli uomini e nelle donne. Un aumentato rischio è fortemente associato al fumo di sigaretta, sia per esposizione diretta che passiva. Esposizioni professionali includono l'arsenico, sostanze chimiche organiche, l'asbesto e le radiazioni ionizzanti (es., il gas radon). Il rischio occupazionale è aumentato per i fumatori. Anche la deficienza di vitamina A è un fattore di rischio sospetto.

**Cancro della prostata.** Questo tipo di cancro è più comune nella razza nera, ed è soprattutto una malattia degli uomini anziani (> 65 anni). E' ritenuta probabile un'associazione con la familiarità e con una dieta ricca di grassi. Il cadmio è un potenziale fattore di rischio lavorativo.

**Cancro della mammella.** È il cancro più comune fra le donne. Sebbene sia possibile trovarlo nelle giovani donne, il cancro alla mammella è principalmente una malattia delle donne in post-menopausa (età >50 anni). Un aumentato rischio è associato alla storia familiare ed al fatto di non avere figli prima dei 30 anni di età. E' ritenuto probabile il ruolo di una dieta ricca di grassi.

**Cancro colon-rettale.** Il cancro colon-rettale è la terza causa principale di morte, sia per i maschi che per le femmine. È associato con una dieta scarsa di fibre o ricca di grassi animali e con una storia di polipi e di colite ulcerosa.

**Cancro dell'utero.** Il cancro della cervice uterina è una malattia delle giovani donne, associata con rapporti precoci, partners diversi e fumo di sigaretta. Invece il cancro dell'endometrio è una malattia delle donne anziane, associata con infertilità, terapia estrogena e obesità.

**Cancro della cavità orale.** Il cancro alla cavità orale è più comune negli uomini, è associato al fumo di sigaretta e della pipa, all'uso di tabacco da masticare e al consumo di alcool.

**Cancro della vescica.** Il cancro della vescica è più comune nella razza bianca e negli uomini. Il fumo è riconosciuto come un fattore di rischio e sono ad alto rischio i lavoratori occupati in fabbriche di coloranti, pelle e gomma.

**Cancro del pancreas.** Il cancro pancreatico è più comune nella razza nera. La maggior percentuale si ha nei maschi e in persone al di sopra dei 65 anni. Il fumo è riconosciuto come fattore di rischio; sono ritenuti coinvolti anche una dieta ricca di grassi, le infezioni croniche, il diabete e la cirrosi.

**Cancro della pelle.** Il comune cancro della pelle ricorre nella metà della popolazione mondiale; tuttavia, una sopravvivenza del 98% ha portato ad escludere questo cancro da molti report statistici. Il melanoma è la forma letale più comune. La carnagione chiara è un forte fattore di rischio, come lo è una eccessiva esposizione al sole. I rischi lavorativi sono rappresentati da catrame minerale, pece o creosoto, arsenico e radio.

**Leucemia.** La leucemia è una malattia dei bambini e degli adulti anziani; in tutti i sessi e in tutte le razze. Sono conosciuti alcuni rischi genetici (es., sindrome di Down), e da alcuni agenti virali (HTLV-1). I rischi lavorativi sono rappresentati dalle radiazioni ionizzanti e dal benzene.

**Cancro dell'ovaio.** Il cancro dell'ovaio è una malattia delle donne anziane (>60 anni), e di quelle che non hanno mai avuto bambini. Il rischio è aumentato tra le donne con storia di cancro della mammella, colon-retto e endometrio.

**Tumori cerebrali.** L'aumentata incidenza in anni recenti di questi tumori potrebbe essere associata con esposizione lavorativa a idrocarburi aromatici e a radiazioni non ionizzanti.

**Linfomi.** I linfomi sono aumentati negli ultimi anni. Si tratta di un gruppo misto di tumori, con alcuni fattori di rischio sospetti, inclusi i pesticidi, i virus e l'esposizione infantile.

**Cancro allo stomaco.** È il cancro principale nei paesi in via di sviluppo, ed è associato alla presenza di nitrati negli alimenti.

**Cancro al fegato.** È il cancro principale nei paesi in via di sviluppo, ed è associato con l'epatite di tipo B, la cirrosi e l'esposizione lavorativa a idrocarburi aromatici.

#### **Indagine sui cancri correlati all'ambiente**

Studiando gli agenti ambientali sono necessarie alcune considerazioni, ma la più importante è la conoscenza dei fattori di rischio. Molta dell'attenzione in epidemiologia ambientale dei tumori è diretta agli studi ecologici. In questo caso, l'utilità dei tassi standardizzati (per età, razza, e sesso) e del numero di attesi è ben stabilita, ma in presenza di una visibilità sociale del cancro l'impatto emotivo della comunità può essere accentuato anche quando si osservano quadri di malattia conformi agli attesi. In uno studio di comunità è importante, qualunque sia il tasso, conoscere il rischio atteso, dato che questa conoscenza sarà preziosa per assegnare le priorità di studio e per educare il pubblico. Analogamente, è utile conoscere quali tipi di cancro hanno un fattore di rischio conosciuto ed essere capaci di valutare la distribuzione dei fattori di rischio nella comunità. Gli epidemiologi ambientali dovrebbero sempre consultare la letteratura sul cancro, prima di intraprendere un nuovo studio. Tuttavia la letteratura è così ampia, con nuove ipotesi che si presentano così rapidamente, che diviene difficile tenersi aggiornati sugli eventi più recenti.

Il periodo di induzione e la latenza potrebbero avere una profonda influenza su ogni indagine di correlazione fra cancro e ambiente. Parlando del cancro, il tempo di trasformazione ed immortalizzazione delle cellule trasformate è un esempio del periodo di induzione. Per il cancro indotto nell'uomo chimicamente, il periodo di induzione generalmente supera i 20 o più anni dall'esposizione. In molti studi, è raro assumere un periodo di induzione compreso tra i 5 e i 10 anni. Gli intervalli di tempo sono frequentemente inclusi nelle considerazioni relative alla eleggibilità dei casi, per accomodare l'intervallo di latenza (per l'esposizione si dovrebbe guardare indietro nel tempo per un periodo anche oltre i 30 anni).

Nel caso di studi su piccole popolazioni ed eventi rari, gli artefatti statistici diventano un problema reale piuttosto che potenziale. Un ragionamento biologico accurato, integrato da raffinati metodi statistici, è quindi necessario. Gli epidemiologi dovrebbero anche indagare fra gli effetti acuti, quali le malformazioni e la neurotossicità, e utilizzare marcatori biologici di esposizione o di malattia.

## 6 DISEGNO DELLO STUDIO E METODI

### Obbiettivi didattici

- Comprendere l'importanza di ipotesi esplicite e obiettivi chiari su cui basare il disegno dello studio
- Essere in grado di descrivere le principali tipologie di studi e relativi metodi.
- Comprendere i punti di forza e le limitazioni di ciascun disegno dello studio in epidemiologia ambientale
- Comprendere i problemi legati all'errore sistematico (*bias*), al confondimento e alla precisione statistica degli studi in epidemiologia ambientale
- Essere in grado di selezionare l'appropriato disegno dello studio per affrontare uno specifico problema ambientale per la salute

### 6.1 Concetti basilari del disegno dello studio

Obiettivo di uno studio di epidemiologia ambientale è valutare se un'esposizione ambientale ha un effetto sulla salute. Questo obiettivo si può raggiungere confrontando l'occorrenza degli effetti sulla salute negli individui che sono stati soggetti a differenti livelli di esposizione e, in particolare, confrontando gli effetti osservati negli individui esposti con quelli nei non esposti (o nei meno esposti). Il risultato di questo confronto viene quantificato calcolando una misura di effetto, come il rapporto tra il tasso di incidenza negli esposti e quello nei non esposti.

Talvolta il problema ambientale che ha determinato l'effetto sulla salute è solo vagamente sospettato; in altre situazioni è completamente sconosciuto. Il primo passo nell'investigare l'effetto sulla salute potrebbe essere quindi uno **studio descrittivo**, che definisce la popolazione di interesse, stima l'incidenza o la prevalenza della malattia, e identifica tutti i potenziali rischi ambientali che potrebbero aver causato la malattia. Uno studio descrittivo non analizza l'associazione statistica tra esposizione e malattia, ma può essere utile nel generare ipotesi per uno studio successivo.

Se si ritiene che esista una specifica relazione causa-effetto, può essere condotto uno **studio analitico**. In questi studi si valida un'ipotesi sulla relazione causa-effetto o si valuta la relazione quantitativa tra effetto ed esposizione. Gli studi analitici sono basati concettualmente sull'osservazione di una popolazione nel tempo. Questa popolazione è denominata **popolazione base** e la sua esperienza di salute nel tempo **periodo a rischio** (tempo-persona a rischio). I concetti di popolazione utilizzati in questo testo sono illustrati in Fig. 3.1. Diversi disegni dello studio sono possibili, e differiscono nel modo in cui la **popolazione in studio** è campionata dalla popolazione base, e nel modo in cui si ricava l'informazione dal periodo a rischio. Perciò i disegni dello studio possono variare a seconda che i casi di malattia siano accertati durante uno specifico periodo di tempo (dati di incidenza) o in un particolare momento nel tempo (dati di prevalenza). I disegni dello studio possono differenziarsi poi a seconda che utilizzino l'intera informazione relativa all'esperienza condotta nel periodo a rischio dalle persone che compongono la popolazione in studio (studi di coorte), o che tentino di ottenere gli stessi risultati paragonando le persone che presentano la malattia (i casi) con le persone che non la presentano, selezionate come campione rappresentativo dell'esperienza della popolazione base che ha generato i casi (studi caso-controllo). La differenza tra le tipologie di studio analitico non è quindi la direzione in cui ci si muove studiando l'associazione tra esposizione e effetto sulla salute (partendo dall'esposizione o dalla malattia, *n.d.t.*), ma l'efficienza relativa, la fattibilità e la qualità dei dati che si possono ottenere usando approcci alternativi.

Un terzo tipo di disegno è rappresentato dallo **studio sperimentale**, nel quale una popolazione definita è divisa in gruppi attraverso una procedura di campionamento casuale. Successivamente il ricercatore assegna o somministra l'esposizione (o il trattamento) ad uno o più gruppi. Gli studi analitici e descrittivi sono stati denominati studi osservazionali per poterli distinguere da quelli sperimentali. Poiché esporre deliberatamente le persone ad agenti pericolosi non è etico, gli studi sperimentali sono usati generalmente solo per misurare l'impatto di trattamenti o di interventi preventivi.

### La collocazione temporale

Gli studi sono denominati **prospettici** quando il ricercatore osserva la popolazione secondo l'ordine naturale degli eventi nel tempo (esposizione - eventuale comparsa di malattia). Sono denominati **storici (retrospettivi)** quando il ricercatore accerta l'esposizione o gli effetti sulla salute dopo la loro comparsa - generalmente usando registrazioni esistenti. La collocazione temporale non riguarda il disegno dello studio, ma è importante in relazione alla validità e alla fattibilità. Per esempio, uno studio di coorte relativo ad una malattia con un lungo periodo di induzione può essere meno costoso se esistono già rilevazioni riguardo all'esposizione, e se è possibile identificare una popolazione in studio classificandone l'esposizione pregressa. In aggiunta, lo studio migliora sotto l'aspetto della fattibilità dal momento che il ricercatore non sarà obbligato ad attendere l'intero periodo di induzione fino alla manifestazione degli eventi di malattia. In generale, gli studi basati su dati già esistenti sono meno costosi di quelli per i quali devono essere raccolti dati nuovi. La qualità dei dati esistenti, tuttavia, può non essere adeguata.

### Ipotesi e finalità

Gli studi hanno una maggior probabilità di risultare fruttuosi se sono basati su ipotesi chiaramente definite. Un'ipotesi può originare a partire dai risultati di studi epidemiologici precedenti o sulla base di ricerche biologiche o tossicologiche. In molti casi l'ipotesi è rappresentata da un'associazione tra esposizione ambientale e un effetto specifico sulla salute. Le associazioni causali si possono dimostrare più chiaramente se è possibile fare confronti tra gruppi che siano stati esposti a livelli differenti dell'agente ambientale, e se i risultati mostrano l'esistenza di una relazione esposizione-risposta.

Anche gli intenti specifici da raggiungere dovrebbero essere chiaramente compresi e formulati. Una dichiarazione di intenti deve essere in grado di indicare gli obiettivi da raggiungere, la natura della popolazione in studio e le principali variabili relative all'esposizione e all'effetto da valutare.

### Fattibilità

La fattibilità dello studio dovrebbe essere valutata prima dell'inizio dello stesso. Dal momento che molti studi sono osservazionali piuttosto che sperimentali, la selezione appropriata di una popolazione in studio è il criterio principale di fattibilità. Altre considerazioni sono correlate a vantaggi e limitazioni riguardo l'efficienza, la logistica e la suscettibilità a *bias* dei vari disegni dello studio. Dal momento che è comunemente possibile raggiungere gli scopi usando più disegni, il ricercatore deve considerare ognuno di questi fattori nel selezionare il disegno più appropriato.

## 6.2 Tipi di studio

La Tabella 6.1 mostra i tipi di studio epidemiologico più comunemente usati, così come elencati nel volume *Basic Epidemiology* (Beaglehole *et al.*, 1993). Tutti questi disegni dello studio sono stati usati in epidemiologia ambientale.

**Tabella 6.1** Tipologie di disegno dello studio in epidemiologia

Tipo di studio	Nome alternativo	Unità in studio
<i>Studi descrittivi</i>		Individui o popolazioni
<i>Studi analitici</i>		
Ecologici	Di correlazione	Popolazioni
Coorte	Follow-up	Individui
Coorte storica	Coorte retrospettiva	Individui
Caso-Controllo	Caso Referente	Individui
Trasversale	Di Prevalenza	Individui
<i>Studi sperimentali</i>	<i>Studi di intervento</i>	
Trial randomizzato controllato	Trial clinico	Pazienti
Trial sul campo		Persone sane
Trial di comunità		Comunità

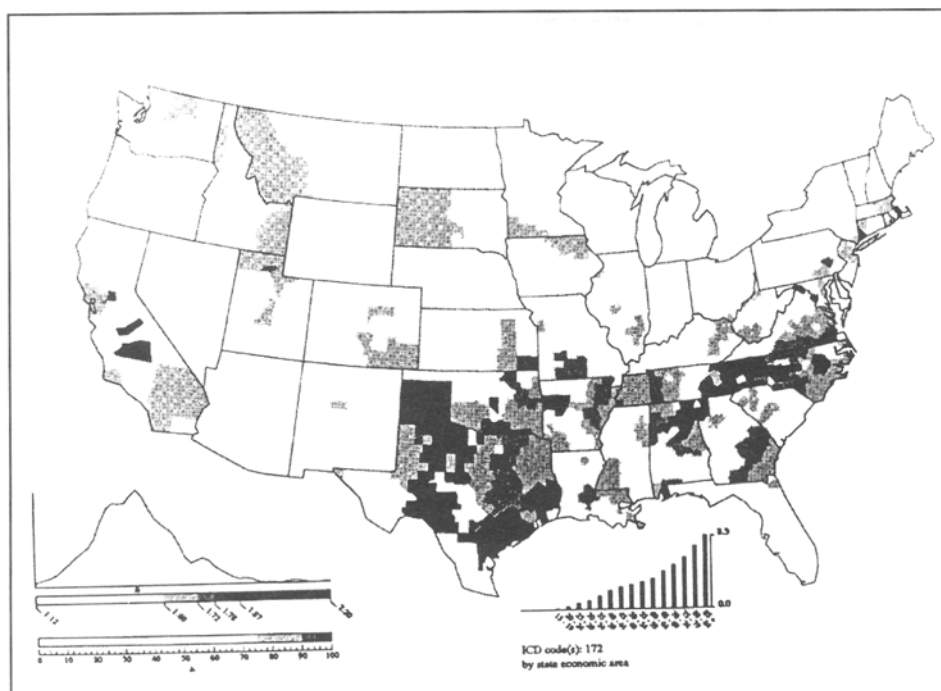
Fonte: adattato da Beaglehole *et al.*, 1993

### Studi descrittivi

Gli studi descrittivi esaminano la distribuzione della malattia e/o dei possibili determinanti ambientali di malattia in una popolazione definita. Sono spesso il primo passo verso ricerche sugli effetti ambientali sulla salute perché possono identificare ipotesi da valutare successivamente con studi analitici. Gli studi descrittivi non valutano formalmente l'associazione tra esposizione ed effetto sulla salute, benché possano essere di aiuto nel considerare la possibilità dell'esistenza di un'associazione. Inoltre, se un'associazione causale è ben stabilita, gli studi descrittivi possono essere utili per stabilire la presenza o l'assenza di un problema ambientale per la salute in una popolazione e quantificare il suo impatto.

La maggior parte degli studi descrittivi sono basati su statistiche di mortalità o morbosità, come ad esempio le dimissioni ospedaliere, ed esaminano gli andamenti degli effetti per età, sesso o gruppo etnico, per specifici periodi temporali o aree geografiche. Per esempio, la mappa sulla mortalità tumorale in Fig. 6.1 mostra l'incidenza del melanoma maligno nel sesso femminile di razza bianca degli Stati Uniti. Le tonalità più scure indicano le aree della popolazione (zone censuarie) con l'incidenza più elevata di melanoma maligno. Il gradiente dei tassi di incidenza rispetto alla latitudine riflette il gradiente dell'esposizione della popolazione alla luce solare (associazione, questa, scientificamente stabilita da altri studi).

**Fig. 6.1 Incidenza di melanoma maligno nel sesso femminile, razza bianca, negli Stati Uniti (1970-1979)**

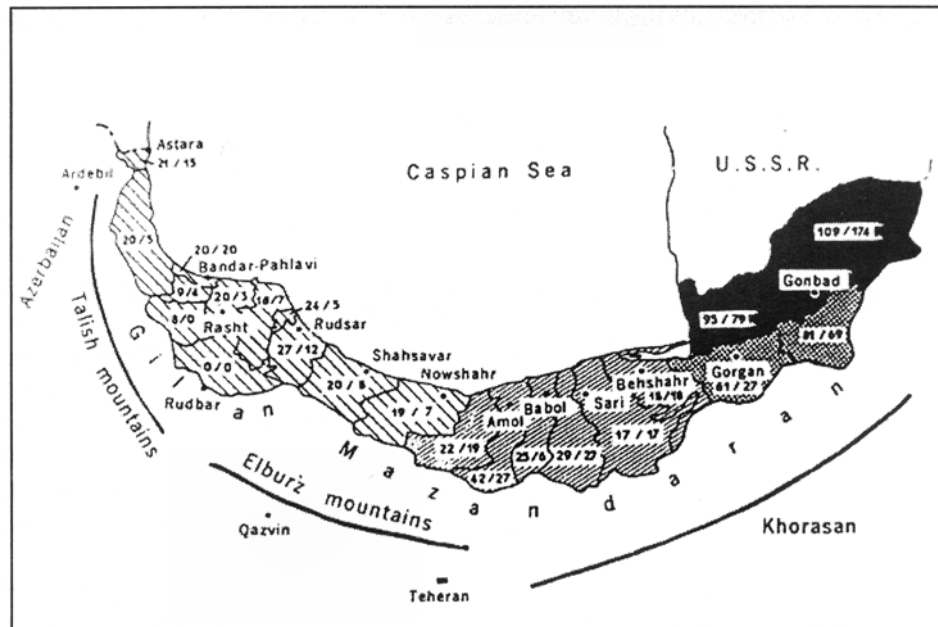


Fonte: USEPA, 1987

I dati descrittivi sono comunemente usati per esaminare gli andamenti degli effetti sulla salute secondo il luogo, il tempo e le persone. I **confronti geografici** basati su tassi standardizzati di mortalità e morbosità possono essere condotti tra Paesi, o tra Regioni entro Paesi. Le variazioni tra Paesi dei tassi di mortalità attribuibili a malattie cardiovascolari e tumori sono state la base per ipotesi riguardanti il ruolo dei fattori ambientali nel manifestarsi di queste malattie. I confronti internazionali, tuttavia, possono essere problematici a causa delle differenze nelle pratiche diagnostiche e nella terminologia. Per esempio, i tassi di incidenza della bronchite cronica e dell'enfisema sembravano essere considerevolmente più alti in alcuni Paesi europei rispetto agli USA; la gran parte della differenza era in realtà dovuta a disomogeneità nella pratica diagnostica. In generale, i confronti geografici tra aree entro un singolo Paese sono meno suscettibili di differenze marcate rispetto a quelli tra Paesi, ma possono essere più rivelatori in campo ambientale. Un esempio è la differenza di quasi 30 volte riguardo al

rischio di tumore dell'esofago per le donne in aree differenti intorno al Mar Caspio in Iran (WHO, 1991b). I tassi di incidenza (per 100.000) variano da 20 negli uomini a 5 nelle donne in alcune aree delle province occidentali, fino a circa 200 negli uomini e 260 nelle donne in alcune parti delle province orientali (vedi Figura 6.2). Variazioni così ampie nei tassi di incidenza entro un'area geografica suggeriscono l'influenza di fattori ambientali.

**Figura 6.2 Tumore dell'esofago nel sesso femminile nel litorale iraniano del Mar Caspio (tassi standardizzati di incidenza)**

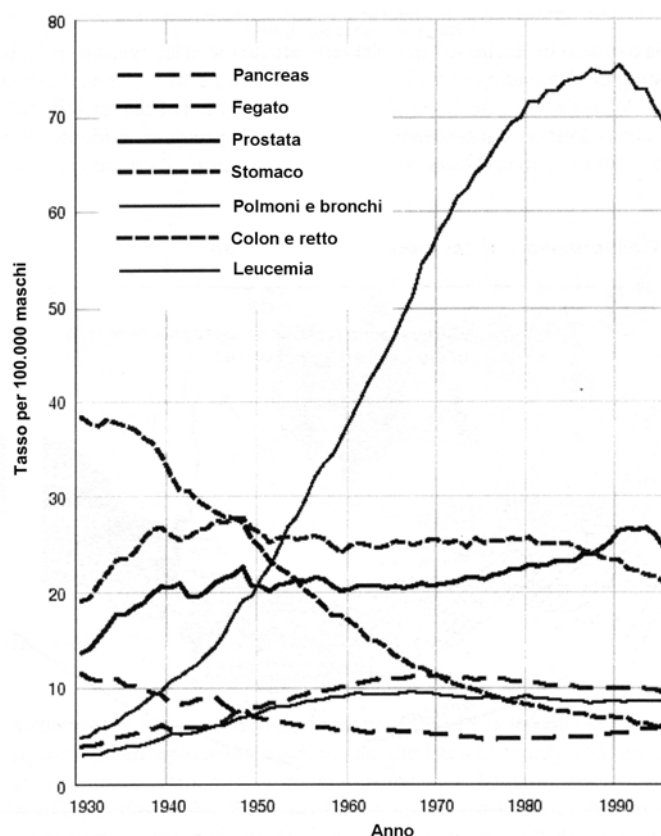


Fonte: WHO, 1991b

Anche gli **andamenti temporali** dei tassi di mortalità o morbosità possono essere preziosi nell'indicare i possibili effetti di fattori ambientali. La Figura 6.3 illustra i cambiamenti nella mortalità tumorale maschile negli USA nel periodo 1930-1995, mentre la Figura 5.3 mostra l'andamento della mortalità per tumore del polmone nelle donne nel tempo. I dati sulla mortalità maschile indicano un aumento dell'incidenza del tumore polmonare, causata dall'aumentata esposizione al fumo di tabacco, e una diminuzione dell'incidenza del tumore dello stomaco, dovuta alla maggiore disponibilità di metodi di refrigerazione dei cibi e di alimenti freschi.

Gli andamenti temporali possono essere esaminati, inoltre, per valutare l'efficacia di un intervento avente lo scopo di mitigare o eliminare esposizioni ambientali pericolose. L'incidenza dello scorbuto (dovuto a mancanza di vitamina C) diminuì drasticamente tra i marinai britannici in seguito all'introduzione dei limoni nella loro dieta durante i viaggi transoceanici, dimostrando l'efficacia della strategia di prevenzione molti anni prima che si identificasse in laboratorio la vitamina C.

**Figura 6.3. Cambiamenti nella mortalità per tumore del polmone nel sesso maschile, USA, 1930-1995**



Fonte: Landis et al, 1999; dati di statistiche demografiche, 1998

Anche i pattern della malattie associati alle **caratteristiche personali** possono fornire suggerimenti sugli effetti dei fattori ambientali. Se, come è spesso il caso, i fattori genetici non sono sufficienti per spiegare con sufficienza le associazioni osservate tra effetti sulla salute ed età, sesso e razza, i fattori ambientali possono essere chiamati in causa. Talvolta differenze negli andamenti dell'esposizione tra uomini e donne possono fornire indicazioni sui fattori contribuenti, come nel caso del tumore al polmone. Nell'esempio sulla mortalità per tumore polmonare negli USA, i tassi di mortalità hanno iniziato ad aumentare prima negli uomini (Figura 6.3) che nelle donne (Figura 5.3); l'osservazione era coerente con l'aumento precedente dei tassi di abitudine al fumo negli uomini in molti Paesi. Più recentemente, negli USA e altrove, i tassi di abitudine al fumo sono aumentati tra le donne e sono diminuiti tra gli uomini. Gli andamenti di incidenza e mortalità dei tumori fumo correlati dovrebbero riflettere questi comportamenti, una volta trascorso l'appropriato periodo di induzione.

Gli studi descrittivi sulle popolazioni migranti, in particolare, possono fornire informazioni utili circa i rispettivi ruoli dei fattori genetici e dei fattori ambientali (Parkin & Khlat, 1996). Posto che sia disponibile l'informazione sul Paese di origine, gli effetti sui migranti possono essere confrontati con quelli dei loro compatrioti, sia nel Paese di origine che in quello della residenza successiva. Per esempio, i tassi di morbosità e mortalità tumorale delle popolazioni migranti spesso giungono ad avvicinarsi a quelli del Paese ospitante, indicando il ruolo giocato dai fattori ambientali. Se i fattori genetici fossero la causa esclusiva, infatti, il rischio di sviluppare la malattia non potrebbe essere influenzato entro una generazione dalla data di migrazione.

Per esempio, uno studio descrittivo sul rischio tumorale tra migranti e i loro discendenti in Israele rivelò che i rischi di tumore del testicolo, carcinoma nasofaringeo e melanoma, riflettevano il luogo di nascita paterno fino alla seconda generazione; per i tumori dell'ovaio, del colon-retto, della cervice uterina e della tiroide, invece, le differenze di rischio tra i gruppi migranti scomparivano nella gene-

razione successiva (Parkin & Iscovich, 1997). I ricercatori conclusero che le esposizioni ambientali erano il principale fattore causale per il secondo gruppo di tumori. Esistono molti altri esempi di studi tumorali basati sui migranti (ad es. Bouchardy *et al*, 1993; Hanley *et al*, 1995; Herrinton *et al*, 1994; Herrinton *et al*, 1996, Rosenblatt *et al*, 1996).

### **Uso di registrazioni esistenti**

Una mole sostanziosa di dati sulle esposizioni ambientali e sull'occorrenza degli effetti sulla salute è raccolta su base routinaria. La maggior parte dei Paesi hanno sistemi di registrazione e di analisi dei dati di mortalità (WHO/CEC, 1989); in molti è disponibile anche un ampio spettro di statistiche di morbosità, quali tassi di malformazioni congenite e malattie infettive. Informazioni aggiuntive possono essere ottenute da indagini campionarie periodiche, quali l'indagine USA sulla Nutrizione e sulla Salute (US National Health and Nutrition Survey).<sup>\*</sup> In confronto, le fonti relative alle esposizioni ambientali sono minori; inoltre, questi dati sono spesso inadeguati per le finalità epidemiologiche, dal momento che non sono raccolti con il proposito di valutare il rischio per la salute. Esempi di dati di monitoraggio ambientale includono stime dei livelli di inquinanti emessi da certe industrie per area geografica, monitoraggi delle acque e dei prodotti alimentari in commercio effettuati dagli enti di sanità pubblica, dati raccolti durante campagne ufficiali di monitoraggio di piombo, pesticidi o altre sostanze tossiche nell'aria o in acqua.

Le informazioni esistenti possono essere usate efficacemente per studiare gli effetti dovuti a passate esposizioni e le malattie a lunga latenza. Molte delle malattie indagate negli studi sugli effetti dell'ambiente, come i tumori, non si manifestano se non molti anni dopo che sia avvenuta un'esposizione biologicamente rilevante. Possono perciò essere necessari dati sulle esposizioni pregresse per poter valutare il rischio attuale di malattia. Questo approccio può essere particolarmente appropriato se i livelli di esposizione ambientale sono cambiati nel tempo. Per esempio, le esposizioni recenti possono essere inferiori rispetto a quelle del passato se sono state sviluppate e applicate nuove tecnologie, meno inquinanti, e nuove tecniche di controllo. Al contrario, le esposizioni recenti possono essere più elevate in seguito alla crescita dell'urbanizzazione, dell'industrializzazione e del trasporto basato sulla combustione dei prodotti del petrolio. In entrambi i casi una valutazione dell'esposizione che si basi su registrazioni esistenti dell'esposizione passata può fornire indicazioni più accurate, rispetto a nuovi dati ottenuti *ad hoc*, riguardo all'esposizione rilevante.

L'uso di dati esistenti può anche essere vantaggioso in termini di costo. Gli studi che si basano sulla disponibilità di dati già registrati tendono a costare meno e a richiedere meno tempo rispetto a quelli in cui devono essere raccolti nuovi dati, e sono utili come preludio a studi definitivi e costosi. In molte situazioni, infatti, lo sforzo iniziale, volto a passare in rassegna i dati esistenti, è giustificato dall'alto costo e dalla quantità di tempo che sarebbero necessari se si volessero raccogliere nuovi dati.

Gli svantaggi principali derivanti dall'uso di dati già esistenti derivano dal fatto che l'informazione contenuta può essere inappropriata rispetto agli obiettivi dello studio e può essere non sufficientemente precisa. Per esempio, i dati di monitoraggio della qualità dell'aria raccolti regolarmente per identificare il superamento dei livelli massimi ammissibili degli inquinanti aerodispersi sono informazioni poco specifiche ai fini della stima dei livelli di esposizione individuale. Altri dati raccolti routinariamente, come la causa di decesso riportata sui certificati di morte, possono essere soggetti a errori sostanziali di misclassificazione (Kelsey *et al*, 1996). Benché numerosi Paesi raccolgano ora un gran numero di dati di morbosità, è necessaria molta attenzione nell'utilizzo di questo tipo di informazioni, anche per studi descrittivi.

Sono state sviluppate comunque strategie per migliorare l'utilità di informazioni esistenti sui rischi ambientali per la salute a disposizione degli amministratori. Per esempio un progetto di analisi per il processo decisionale sui rischi ambientali per la salute (Health and Environment Analysis for Decision-making, HEADLAMP) coordinato dall'OMS, ha utilizzato metodi descrittivi tradizionali per dimostrare che i dati di tipo ambientale e sanitario raccolti regolarmente possono essere associati e

---

<sup>\*</sup> In Italia sono condotte con regolarità l'indagine ISTAT sullo stato di salute della popolazione e l'indagine nazionale dell'Istituto per la Nutrizione [n.d.t]



interpretati per fornire ai decisori politici informazioni sufficienti per preparare piani di azione efficaci su rischi ambientali e salute (Briggs *et al*, 1996). Il processo HEADLAMP ha tre caratteristiche definite (Briggs *et al*, 1996). In primo luogo è focalizzato sulle relazioni già conosciute tra esposizioni ambientali ed effetti sulla salute; sulla base di queste relazioni sono identificati gli indicatori ambientali per la salute e poi sono scelti quelli potenzialmente utili nel processo decisionale. In secondo luogo gli indicatori ambientali per la salute sono generalmente basati su dati raccolti regolarmente, che, come discusso precedentemente, sono meno costosi. Infine, l'intento del processo HEADLAMP è di generare informazioni sulla base delle quali intraprendere azioni preventive. Questo processo quindi è orientato alla gestione e prevenzione dei rischi ambientali, piuttosto che alla ricerca eziologica, che è invece l'obiettivo di molti studi epidemiologici.

### **Studi ecologici**

Gli studi ecologici sono studi in cui i ricercatori analizzano le associazioni ipotizzate tra esposizioni ambientali ed effetti sulla salute utilizzando come unità di analisi gruppi di popolazione invece che singoli individui. Il numero di persone che hanno sperimentato combinazioni specifiche di esposizione ed effetto non è conosciuto. Uno studio ecologico perciò mette a confronto misure aggregate di esposizione, come l'esposizione media o la proporzione di popolazione esposta, con misure aggregate di tassi di effetto per la stessa popolazione.

La ricerca di un'associazione tra arsenico e mortalità tumorale che venne condotta a Taiwan in un'area endemica per la malattia Blackfoot è un esempio di studio ecologico (Chen *et al.*, 1985, Chen & Wang, 1990). I ricercatori usarono i dati sulle concentrazioni di arsenico misurate in oltre 83.000 siti dall'Istituto Provinciale di Igiene ambientale di Taiwan come misura di esposizione ad arsenico. Questi dati furono usati per stimare la concentrazione media di arsenico nell'acqua potabile di alcune centinaia di distretti amministrativi. I dati di mortalità tumorale e quelli demografici di popolazione per distretto amministrativo vennero ottenuti dal Dipartimento Provinciale di Sanità di Taiwan. I ricercatori condussero analisi di correlazione e di regressione per esaminare l'associazione tra concentrazione di arsenico nell'acqua potabile e mortalità (controllata per età) per varie neoplasie maligne, controllando fattori quali il grado di urbanizzazione e industrializzazione. Furono osservate associazioni tra le concentrazioni di arsenico rilevate nell'acqua potabile ed elevati tassi di tumore del fegato, delle cavità nasali, del polmone, della pelle, della vescica e del rene.

Tradizionalmente il ruolo degli studi ecologici è stato quello di eseguire analisi esplorative sfruttando le registrazioni di dati di popolazione già esistenti. Questo tipo di studi tuttavia gioca un ruolo più ampio in epidemiologia ambientale rispetto ad altre aree dell'epidemiologia stessa, in quanto i fattori ambientali spesso comportano livelli di esposizione simili o omogenei per popolazioni di grandi dimensioni. E' plausibile che l'inquinamento atmosferico di un'area urbana esponga la maggior parte degli abitanti alle medesime concentrazioni di inquinanti in atmosfera, situazione espositiva uniformemente diversa da quella di un'area rurale. Allo stesso modo si possono mettere a confronto tra loro gli effetti sulla salute, osservati in aree diverse, conseguenti all'esposizione a differenti concentrazioni di arsenico o a prodotti derivanti dalla clorazione delle acque. La possibilità di misclassificazione del livello di esposizione individuale è minore per questo tipo di esposizioni. Uno studio ecologico relativo ad esposizioni ambientali, quindi, può essere generalmente interpretato con maggiore accuratezza rispetto a studi in cui l'esposizione è determinata da stili di vita o comportamenti individuali, come nel caso dell'abitudine al fumo o di un'esposizione avvenuta attraverso l'alimentazione.

### **Disegno dello studio ecologico**

La strategia per condurre uno studio ecologico consiste nel determinare se nelle unità ecologiche (cioè i gruppi di popolazione) dove si osservano elevate frequenze di esposizione tendono a registrarsi anche più elevati effetti sulla salute. Generalmente il ricercatore ottiene per lo stesso gruppo in studio dei tassi aggregati come misura di effetto sulla salute e una prevalenza come misura dell'esposizione. Questi dati sono poi analizzati statisticamente per valutare l'esistenza di associazioni a livello di gruppo in studio.

In comune con gli approcci utilizzati negli studi descrittivi, gli studi ecologici spesso usano **aree**

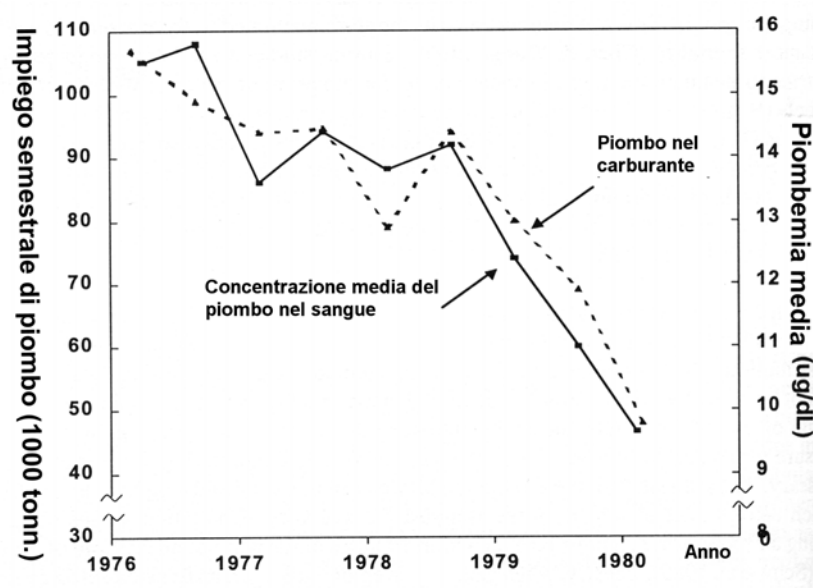
**geografiche**, al pari di nazioni o suddivisioni amministrative entro nazioni, come base per la definizione dei gruppi in studio, come documentato dallo studio prima menzionato sull'arsenico nelle acque e la mortalità tumorale (Chen & Wang, 1990). Studi simili sono stati condotti in altri Paesi per valutare il rischio tumorale dovuto al consumo di acque contenenti prodotti derivati dalla procedura di clorazione (Bean *et al.*, 1990), composti radioattivi (Bean *et al.*, 1982b) e composti chimici organici volatili (Fagliano *et al.*, 1990). Il disegno dello studio ecologico è stato anche usato per confrontare i tassi di malformazioni congenite e di basso peso alla nascita per sezione di censimento negli USA in relazione all'esposizione a differenti livelli di contaminanti ambientali (Shaw *et al.*, 1992) e per confrontare i tassi di mortalità tumorale tra contee negli USA in relazione alla presenza o meno di discariche, identificate come potenziali fonti di esposizione (Griffith *et al.*, 1989).

Benché questo sia un approccio semplice, può essere difficile determinare i livelli di esposizione in modo preciso e puntuale se le unità geografiche a cui i dati sanitari si riferiscono mostrano una relazione debole con l'occorrenza o la distribuzione del fattore ambientale in studio. I dati di monitoraggio delle acque, per esempio, potrebbero non essere raccolti specificatamente per un'unità amministrativa come quella di una cittadina; questa invece potrebbe essere l'unità in analisi per cui è possibile stimare i tassi per le patologie di interesse. E' spesso necessario, quindi, stimare l'esposizione media per unità amministrativa sulla base dei dati di monitoraggio disponibili. Per questo motivo, in uno studio sull'associazione tra inquinamento atmosferico e funzione polmonare, venne assegnato agli individui in ciascuna sezione di censimento il valore medio di inquinamento ottenuto da stazioni di monitoraggio localizzate entro 10 miglia dal centroide di popolazione del tratto censuario (Schwartz, 1989). Chiaramente, quando si progetta un'analisi epidemiologica basata su aree geografiche, occorre valutare quanto i dati disponibili di esposizione ed effetto corrispondano per l'unità scelta per l'analisi.

Poiché gruppi di popolazione di aree geografiche diverse spesso differiscono in quanto a condizioni e stili di vita, è necessario prendere in considerazione il controllo dei fattori di rischio che possono causare errore sistematico (*bias*) e confondimento negli studi ecologici. Questo significa che la specifica esposizione in studio può variare tra questi gruppi come anche l'esposizione ad altri fattori di rischio in grado di provocare la patologia. Il confondimento o la modificazione di effetto non possono essere esclusi sulla base di altri studi a livello individuale dimostranti l'assenza di confondimento entro ciascuna area in studio (Morgenstern & Thomas, 1993). Per esempio in un'area con alti livelli di inquinamento atmosferico potrebbe non esserci associazione tra abitudine al fumo ed esposizione agli inquinanti. Lo stesso può valere per un'area a basso inquinamento atmosferico. Ancora, se sono correlati il livello medio di inquinamento atmosferico e la proporzione media di fumatori, uno studio ecologico sugli effetti polmonari dell'inquinamento atmosferico può essere soggetto a confondimento, perché parte dell'apparente associazione tra effetto polmonare e inquinamento potrebbe essere dovuta a prevalenze diverse di fumatori nei gruppi.

I gruppi studiati in uno studio ecologico possono essere definiti per **periodo temporale**. I confronti temporali, o gli studi di trend temporali, analizzano nel tempo, in una stessa popolazione, le associazioni tra i cambiamenti nell'esposizione a fattori ambientali e i cambiamenti nei tassi delle patologie. Uno dei vantaggi nell'effettuare confronti temporali consiste nel fatto che quelle caratteristiche della popolazione, ad esempio fattori socio-demografici, che potrebbero distorcere l'associazione a livello di gruppo, tendono ad essere relativamente costanti nel tempo nella stessa area geografica. La Fig. 6.4 mostra la correlazione tra la quantità di piombo presente nella benzina in USA e la concentrazione media di piombo ematico, come misurata in uno studio ecologico in un periodo di quattro anni (Goldsmith, 1988).

**Figura 6.4. Cambiamenti nella quantità di piombo usato per la benzina e concentrazione media di piombo ematico negli Stati Uniti**



Fonte: Goldsmith, 1988

#### Punti di forza e limitazioni

Il principale punto di forza degli studi ecologici è che essi sono generalmente basati su dati esistenti e sono perciò relativamente poco dispendiosi da condurre. Questo tipo di disegno dello studio può essere utile per studiare malattie rare causate da esposizioni rare, laddove la popolazione fonte da cui originano i dati può essere molto grande, portando ad esempio a condurre confronti di tipo ecologico tra Paesi diversi.

Gli studi ecologici tuttavia possono essere difficili da interpretare a causa della limitatezza delle informazioni sui fattori che possono condurre a *bias* nei risultati. Una considerazione importante è il potenziale per il **bias ecologico**, in cui le associazioni a livello di gruppo in studio non riflettono con accuratezza le associazioni esistenti a livello individuale (Morgenstern, 1982; Greenland & Morgenstern, 1989; Morgenstern & Thomas, 1993). Il problema sottostante è che l'uso di misure aggregate di esposizione può non descrivere in modo adeguato lo stato di esposizione a livello individuale a causa dell'eterogeneità dell'esposizione entro gruppi (Morgenstern & Thomas, 1993). Questo tipo di disegno dello studio deve perciò essere usato con cautela perché la dimensione del *bias* ecologico tende ad essere più grande e meno prevedibile del *bias* a livello individuale nella stima del medesimo effetto.

Gli studi ecologici hanno ulteriori limitazioni. Per esempio, la misclassificazione non differenziale dell'esposizione può portare ad una sovrastima della misura dell'effetto; non si dovrebbe assumere che il *bias* dovuto ad informazioni inadeguate comporti solo una sottostima dell'effetto dell'esposizione (Brenner *et al.*, 1992). Inoltre le esposizioni ambientali sono spesso altamente correlate, il che significa che identificare l'esposizione causale può essere difficile. In uno studio sull'inquinamento atmosferico, per esempio, regioni differenti possono avere concentrazioni altamente correlate di ozono, aerosol acidi e particolato respirabile, rendendo problematica la separazione dell'effetto specifico di ciascun inquinante. Infine, l'analisi dei dati ecologici può essere limitata se lo studio riguarda relativamente poche unità in osservazione, e anche quando le unità sono costituite da popolazioni molto grandi (la precisione statistica degli studi ecologici si basa in primo luogo sul numero di unità e non sulla dimensione delle popolazioni che costituiscono le unità stesse).

Lo studio dei trend temporali su un periodo di tempo molto lungo può essere anche complicato da cambiamenti sostanziali nelle caratteristiche demografiche e nell'entità del rischio di base. Nei de-

cenni più recenti questi cambiamenti si sono verificati in molti Paesi in via di sviluppo a causa dell'aumento della densità di popolazione e dell'industrializzazione. Inoltre i dati sull'esposizione e sugli effetti possono non essere più confrontabili. Per esempio le tecniche e gli strumenti usati per misurare l'inquinamento atmosferico sono cambiati nel tempo. Le pratiche diagnostiche e i metodi di codifica delle diagnosi come la Classificazione Internazionale delle Malattie sono anch'esse cambiate. I ricercatori dovrebbero essere consapevoli di questi cambiamenti e sviluppare strategie per rendere sufficientemente confrontabili i dati.

A dispetto delle potenziali limitazioni degli studi ecologici, tuttavia, questi possono dimostrare chiaramente come un cambiamento nei livelli di esposizione sia seguito da cambiamenti negli effetti sulla salute, per esiti plausibili. Questo soprattutto nel caso in cui si associ un'analisi temporale ad un'analisi geografica al fine di dimostrare che un cambiamento nei livelli di esposizione occorso nel tempo in una data area sia associato con un cambiamento di effetti sulla salute, mentre in altre aree geografiche comparabili le esposizioni e gli effetti permangono stabili.

### Studi di coorte

In uno **studio di coorte** la popolazione in studio consiste in soggetti a rischio di sviluppare una particolare malattia o manifestare un determinato effetto. I soggetti sono divisi in gruppi a seconda del loro stato di esposizione. I gruppi sono seguiti nel tempo per determinare la conseguente incidenza di un dato esito sanitario in ogni gruppo. Uno studio di coorte permette al ricercatore di misurare tassi di incidenza e di stimare tutte le misure di effetto, ad esempio il rapporto e la differenza tra tassi, per più di un esito sanitario. Uno studio di coorte è chiamato **prospettico** se i dati sono raccolti secondo l'ordine di comparsa degli eventi e **storico** se sono esaminati eventi passati (usando dati registrati); questi termini si riferiscono al tempo e non al disegno dello studio.

Gli studi di coorte sono stati usati efficacemente in epidemiologia ambientale per valutare gli effetti a lungo termine di esposizioni acute a fattori di rischio ambientali. Per esempio, studi di coorte hanno seguito nel tempo popolazioni esposte a radiazioni: le popolazioni in Giappone che sono state vittime di esplosioni nucleari durante la II Guerra Mondiale; bambini sottoposti a trattamenti con radiazioni per l'ipertrofia del timo; donne trattate con radiazioni per mastiti post-partum e comunità colpite dagli effetti dell'incidente nucleare di Chernobyl. Sono stati intrapresi studi di coorte anche per misurare gli effetti cronici prodotti in popolazioni esposte dall'immissione nell'ambiente di composti chimici tossici relativi a siti industriali. Lo studio delle comunità residenti in prossimità dello stabilimento di pesticidi di Bhopal (India), dove la fuoriuscita di metil-isocianato uccise più di 2000 persone e ne intossicò altre 200.000 nel 1984, è un esempio. Lo studio dei residenti a Seveso, in Italia, che furono potenzialmente esposti alla 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-diossina in seguito a un'esplosione in uno stabilimento chimico nel 1976 è un altro esempio ancora (Bertazzi *et al*, 1989, Bertazzi *et al*, 1992). Ulteriori esempi classici di studi di coorte in relazione ad episodi di avvelenamento includono studi in Giappone di popolazioni esposte a cadmio, che avevano sviluppato la malattia Itai-Itai (WHO, 1992a), studi di popolazioni affette dalla malattia di Yusho quale risultato dell'ingestione di olio di riso contaminato con bifenili policlorurati, e studi su bambini residenti intorno a Minamata esposti a metilmercurio (WHO, 1990, 1992c).

### Disegno degli studi di coorte

Ci sono due tipologie fondamentali di coorte. Ciascuna è definita secondo il tipo di popolazione fonte dei casi su cui si basa. Una **coorte fissa** consiste di una popolazione di soggetti che sono identificati in un punto o in un intervallo di tempo e che sono successivamente seguiti nel tempo. Le coorti fisse possono anche essere definite sulla base di uno specifico evento, quale l'esposizione a fuoriuscite di sostanze chimiche. La coorte si considera fissa perché l'appartenenza ad essa è definita (fissata) al momento dell'ingresso. Esempi includono i bambini irraggiati per ipertrofia del timo o la comunità di Seveso, potenzialmente esposta alla diossina. Una **coorte dinamica** permette l'inclusione di soggetti nel tempo, man mano che essi soddisfino i criteri di selezione. Un esempio di coorte dinamica potrebbe essere una comunità esposta all'inquinamento atmosferico, verso la quale e dalla quale i soggetti si spostano durante il periodo di osservazione. Il concetto di coorte dinamica è attraente perché riflette la vera natura delle popolazioni, costantemente soggette a cambiamenti. Gli studi a coorte

dinamica sono maggiormente praticabili nei Paesi o regioni in cui vi è una pratica costante di raccolta e mantenimento dei dati della popolazione.

Le principali tappe nella conduzione di uno studio di coorte sono:

- identificare e selezionare la popolazione in studio;
- classificare la popolazione in studio secondo lo stato di esposizione e altri fattori rilevanti di rischio;
- seguire i soggetti della coorte nel tempo per determinare la comparsa degli effetti sulla salute nei sottogruppi definiti in base allo stato di esposizione.

#### **Selezione della popolazione in studio**

I componenti della coorte devono essere a rischio di sviluppare la patologia in studio. Nel selezionare la coorte, perciò, il ricercatore deve eliminare i soggetti che non potranno sviluppare la patologia o che manifestano già la patologia studiata, nonché quelli non suscettibili (vedi Box 6.1). In uno studio su soggetti esposti a fumo passivo, ad esempio, i soggetti potenziali partecipanti alla coorte devono essere sottoposti a controlli medici all'inizio dello studio, per accertarsi che siano liberi da affezioni respiratorie.

La popolazione in studio (coorte) può essere selezionata in uno dei due modi seguenti. I soggetti possono essere reclutati nella coorte indipendentemente dallo stato di esposizione - quella che si chiama **strategia censuaria**. Lo stato di esposizione è determinato dopo l'arruolamento dei soggetti nella coorte. Questo approccio è utile se l'esposizione è verosimilmente comune, o se lo scopo dello studio è l'identificazione degli effetti di più fattori ambientali, dal momento che l'esposizione può essere classificata in più modalità nella stessa coorte. Per esempio, in uno studio di coorte su diversi fattori ambientali associati con la comparsa di sibili respiratori, i ricercatori identificarono una coorte di soggetti di mezza età e di soggetti anziani o residenti in comunità, senza precedenti sintomi di sibili e asma, indipendentemente dai decorsi nello stato di esposizione (Sparrow *et al.*, 1993). I ricercatori ottennero successivamente le informazioni su ciascuna delle diverse esposizioni ed eseguirono una varietà di test medici come esami di base. L'analisi valutò quali delle caratteristiche di base e di esposizione fossero predittrici della comparsa di nuovi sibili respiratori nel periodo di osservazione previsto di tre anni. Il campionamento censuario per uno studio di coorte può essere inefficiente se l'esposizione studiata è rara.

#### **Box 6.1. Linee guida per la selezione di soggetti esposti e non esposti in studi di coorte**

- I soggetti non esposti dovrebbero essere campionati dalla stessa popolazione degli esposti (o una popolazione comparabile).
- Sia gli esposti che i non esposti dovrebbero non essere affetti dalla patologia oggetto di studio ed essere suscettibili allo stesso modo di sviluppare la malattia a inizio studio.
- Esposti e non esposti non dovrebbero differire in modo sistematico nelle caratteristiche di base, eccetto per quanto riguarda l'esposizione studiata.
- Informazioni quantitativamente e qualitativamente equivalenti circa lo stato di esposizione e di malattia dovrebbero essere disponibili per gli esposti e per i non esposti.
- Entrambi i gruppi dovrebbero essere reperibili e disponibili nel sottoporsi ad un periodo di osservazione.
- Più gruppi di confronto, composti da soggetti non esposti scelti sulla base di criteri differenti, possono rafforzare la validità dei risultati

*Fonte: adattato da Greenberg & Daniels, 1993*

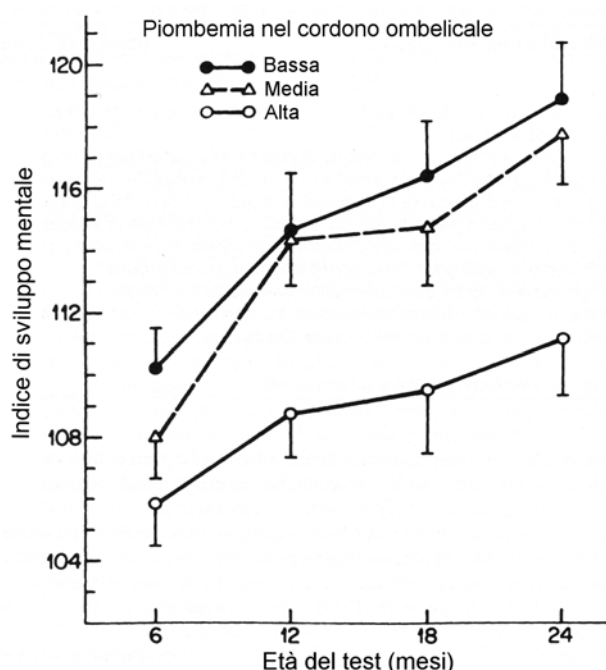
La strategia alternativa consiste nel selezionare i membri della coorte sulla base del loro **stato di esposizione**. Questo approccio può essere efficiente dal momento che può essere selezionato in modo bilanciato il numero di esposti e di non esposti. Per esempio, in uno studio su esposizione prenatale a piombo e sviluppo mentale, venne misurata la concentrazione di piombo nel cordone ombelicale in

oltre 11000 neonati. I risultati di questa indagine campionaria furono usati per identificare i bambini i cui livelli di piombo ematico ricadevano sotto il 10° percentile ( $< 3\mu\text{g/dL}$ ), intorno al 50° percentile (tra 6 e  $7\mu\text{g/dL}$ ) e oltre il 90° percentile ( $\geq 10\mu\text{g/dL}$ ) (Bellinger *et al.*, 1987). Questi gruppi, che rappresentavano rispettivamente bambini poco esposti, mediamente esposti e molto esposti, furono osservati fino a 24 mesi di età e sottoposti a test standardizzati per lo sviluppo cognitivo. Come mostrato in Figura 6.5, i bambini del gruppo con elevati livelli di esposizione prenatale a piombo ottennero punteggi inferiori degli altri due gruppi lungo tutto il periodo di osservazione. Lo studio fu perciò capace di dimostrare l'effetto avverso dell'esposizione pre e postneonatale a piombo sullo sviluppo mentale dei bambini, senza dover seguire nel tempo l'intera popolazione di 11000 neonati.

Nel progettare uno studio di coorte è cruciale l'identificazione di un'appropriata fonte di campionamento per la selezione della popolazione in studio (vedi Capitolo 3 in merito ai campionamenti). Le fonti di campionamento degli studi di coorte includono liste censuarie, registri parrocchiali, registri di pazienti auto, elenchi telefonici. Evidentemente la disponibilità di tali supporti varia considerevolmente tra comunità diverse, arrivando ad essere del tutto non disponibile in determinate aree.

Gli epidemiologi ambientali preferiscono spesso popolazioni di studio ben definite dal momento che, qualora esse siano adeguate per le ipotesi in studio, sono spesso relativamente facili da identificare e da osservare nel tempo. Gli esempi includono gruppi occupazionali (scelti non necessariamente a causa di particolari esposizioni occupazionali, ma sulla base della loro residenza, o sulla disponibilità di dati registrati), membri coinvolti in progetti sanitari, popolazioni scolastiche, collegi, militari. Il ricercatore dev'essere certo, tuttavia, che i vantaggi offerti dalla facilità nell'identificazione e nell'osservazione nel tempo non siano annullati da limitazioni nell'interpretazione; la popolazione in studio non dovrebbe essere così atipica, ad esempio, da rendere non generalizzabili i risultati dello studio.

**Figura 6.5** Indice di sviluppo mentale medio in relazione alla concentrazione di piombo nel cordone ombelicale



Fonte: Bellinger *et al.*, 1987

#### **Selezione di un gruppo di confronto**

Negli studi di coorte un gruppo di non esposti rappresenta il gruppo di confronto o di riferimento. Il gruppo di confronto fornisce una misura degli effetti sulla salute che si manifestano in una popolazione non esposta, e potrebbe derivare dalla coorte già definita (dopo che è stata suddivisa nei gruppi di esposti e non esposti), nel cui caso sia conosciuto come gruppo di riferimento **interno**. È anche possibile

scegliere un gruppo di riferimento da un campione più ampio della popolazione fonte, che si sappia non essere esposto. In questo caso il gruppo di riferimento è un gruppo di riferimento **esterno**. Alcuni studi hanno sia un gruppo di riferimento esterno che uno interno; ad esempio, in uno studio sugli effetti sanitari occorsi tra soggetti residenti intorno a discariche, i ricercatori selezionarono i residenti in una comunità vicina non esposta come gruppo di riferimento, ma divisero anche in diversi gruppi i residenti della comunità situata nelle vicinanze della discarica, basandosi sull'esposizione potenziale stimata, annoverando tra questi un gruppo di non esposti (Baker *et al.*, 1988).

Il vantaggio di usare un gruppo di riferimento interno è che i vari gruppi di esposti nella stessa popolazione sono più confrontabili tra loro che non con popolazioni di riferimento esterne. Può non essere possibile però identificare, entro una singola coorte, un gruppo di non esposti sufficientemente ampio. Inoltre, usando un gruppo di riferimento esterno, il ricercatore può essere in condizione di utilizzare dati già esistenti invece di raccogliere nuovi dati, risparmiando molto in termini di costo. Uno studio di coorte, ad esempio, potrebbe confrontare il numero di decessi in una comunità esposta con quello atteso in circostanze normali sulla base dei tassi di mortalità regionali o nazionali ottenuti da archivi correnti. La sfida maggiore nel selezionare un gruppo di riferimento esterno è di assicurarsi che esso sia confrontabile con la popolazione esposta sotto tutti gli aspetti, tranne che per l'assenza di esposizione.

#### **Osservazione nel tempo della popolazione**

I metodi per seguire nel tempo una coorte dipendono dalla disponibilità di registrazioni adeguate. Nella fase del disegno di uno studio di coorte dovrebbe quindi essere condotta una verifica, per assicurarsi che siano disponibili i dati necessari. Se si utilizzano dati di mortalità il ricercatore deve decidere quale fonte di dati considerare nello studio, se ad esempio archivi nazionali o certificati di morte singoli. Ottenere archivi nazionali o internazionali può essere troppo costoso. D'altra parte registrazioni limitate potrebbero non fornire informazioni sufficienti o accurate sui soggetti che migrano durante il periodo di osservazione.

Gli studi osservazionali di esiti non mortali non sono diversi per principio da studi di coorte di mortalità, ma dal momento che la definizione degli esiti non mortali necessita del contatto con i soggetti, si richiedono strategie più attive per seguire nel tempo la popolazione in studio. Il contatto diretto potrebbe essere necessario, per esempio, per ottenere informazioni su esiti quali sintomi respiratori o per misurare la funzionalità polmonare. Detto questo, il contatto diretto potrebbe non essere invece necessario se l'esito può essere ricavato da archivi esistenti, come nel caso dell'ospedalizzazione per infarto del miocardio. Tipicamente, negli studi di coorte a lungo termine, i ricercatori contattano periodicamente i soggetti. Così, nel disegnare lo studio, il ricercatore deve raggiungere un equilibrio tra l'incorrere in costi più elevati (dovuti a brevi intervalli tra un contatto e l'altro) e sostenere grandi perdite di informazioni (dovute a contatti meno frequenti con i soggetti).

#### **Studi di coorti storiche**

Uno studio di coorte storico è concettualmente identico a uno prospettico, eccetto il fatto che lo studio si svolge dopo che gli eventi causali hanno avuto luogo. Il ricercatore, in genere, usa registrazioni esistenti per identificare una coorte per un periodo di tempo nel passato, assegnare lo stato di esposizione e quindi seguire nel tempo la coorte. Per esempio, negli studi di coorte di bambini esposti a radiazioni ionizzanti durante i trattamenti per l'ipertrofia del timo, i ricercatori utilizzarono registrazioni mediche per identificare i bambini e per stimare le dosi di radiazioni. I dati dei registri tumori e dello stato in vita anagrafico misero in grado i ricercatori di seguire nel tempo i bambini per determinare l'incidenza e la mortalità tumorale.

I vantaggi relativi degli studi di coorte prospettici e storici sono riassunti in Tabella 6.2. Gli studi di coorte storica sono generalmente meno costosi e richiedono meno tempo per essere completati di quelli prospettici. Tuttavia i dati esistenti su cui si basano gli studi di coorte storica possono fornire informazioni non accurate, e anche se l'informazione sul fattore ambientale di interesse fosse disponibile, potrebbe non esserci l'informazione sui fattori confondenti. Inoltre, i metodi di monitoraggio dell'esposizione e i criteri diagnostici potrebbero essere cambiati col passare del tempo, rendendo difficile combinare dati raccolti nel passato con quelli raccolti più recentemente.

**Tabella 6.2 Confronto tra l'approccio prospettico e storico negli studi di coorte**

Attributo	Approccio prospettico	Approccio storico
Informazione	Più accurata e completa	Meno accurata e completa
Esposizione discontinua	Inutile	Utile
Esposizioni nuove, emergenti	Utile	Inutile
Costo	Più costoso	Meno costoso
Tempo necessario alla conclusione	Più lungo	Più breve

Fonte: adattato da Greenberg & Daniels, 1993.

### **Punti di forza e limitazioni**

Il disegno dello studio di coorte è generalmente considerato il più definitivo tra i disegni dello studio osservazionali perché il ricercatore identifica la popolazione in studio e segue nel tempo gli eventi causali secondo il loro svolgimento: dall'esposizione fino allo sviluppo dell'esito sulla salute. Lo stato di esposizione è determinato prima che si manifestino gli effetti sulla salute. Il fatto di conoscere il rischio associato con la malattia non può quindi influenzare il modo in cui viene classificata l'esposizione. La relazione temporale tra esposizione ed esito è definita in modo chiaro. Questo disegno dello studio permette anche l'analisi di diversi esiti sanitari in relazione all'esposizione.

Gli studi di coorte tuttavia non sono comunemente intrapresi in epidemiologia ambientale a causa degli elevati costi. Se il periodo di latenza tra esposizione ed occorrenza dell'esito è lungo, è plausibile che essi siano impraticabili. Gli studi di coorte possono essere inoltre inefficienti nel caso in cui l'esito sanitario sia raro. Questo perché la popolazione in studio dovrebbe essere molto grande, così da permettere l'osservazione di un numero sufficiente di eventi. A paragone con gli studi di coorte occupazionali, infine, risulta più difficile identificare e condurre l'osservazione nel tempo delle coorti estratte dalla popolazione generale.

Gli studi di coorte sono stati usati efficacemente per valutare esiti sanitari che non hanno lunghi periodi di latenza (cioè compresi tra mesi e alcuni anni). Un esempio è lo studio, già citato, sui bambini seguiti dalla nascita fino ai 24 mesi di età, che valutava l'effetto dell'esposizione pre e post natale al piombo sullo sviluppo cognitivo (Bellinger *et al.*, 1987). Un altro esempio è lo studio di Neas *et al.* (1994) sugli effetti sulla sintomatologia respiratoria e sulla funzionalità polmonare dell'esposizione a particolato negli ambienti chiusi nei bambini, su un periodo di tempo di cinque anni. Il periodo di osservazione di uno studio di coorte può avere qualunque lunghezza, a patto che si verifichino un numero adeguato di eventi (stimati sulla base della dimensione della popolazione in studio, dei tassi di incidenza attesi e del periodo di induzione).

Benché gli studi di coorte a lungo termine siano costosi e difficili da condurre, essi possono essere giustificati se l'evidenza suggerisce che esiste una associazione tra un effetto cronico sulla salute ed un'esposizione ambientale. Needleman *et al.* (1990) hanno condotto uno studio di coorte della durata di 11 anni su bambini esposti a piombo, attraverso la misurazione dei livelli di piombo nella dentina, per valutare la presunta associazione tra esposizione a piombo e peggioramento delle funzioni neuro-comportamentali. Si decise di intraprendere questo studio a lungo termine basandosi sui risultati di studi trasversali e di coorte a breve termine che avevano rivelato una possibile associazione tra esposizione a piombo ed effetti sulla salute dei bambini. Allo stesso modo Dockery *et al.* (1993b) hanno valutato l'effetto dell'inquinamento atmosferico sulla mortalità per un periodo di osservazione tra i 14 ed i 16 anni, dimostrando l'associazione tra esposizione a particolato fine e mortalità a lungo termine per tumore del polmone e malattie cardiopolmonari. Si intraprese questo studio dopo che studi ecologici e di serie temporali avevano dimostrato questa associazione su base trasversale. Come è spesso il caso nella ricerca epidemiologica a lungo termine, le popolazioni in studio utilizzate in queste ricerche sono state ritenute una notevole risorsa per la scienza.



### Studi caso-controllo

Uno studio caso-controllo (o studio caso-referente) esamina l'associazione tra esposizione ed esito sanitario confrontando i **casi**, o gli individui che sviluppano l'esito, e i **controlli** che sono un campione della stessa popolazione fonte da cui sono tratti i casi. Come discusso nel Capitolo 3, la popolazione fonte e l'esperienza in anni uomo della popolazione fonte non sono direttamente osservabili in uno studio caso-controllo. I controlli sono generalmente individui simili ai casi in termini di caratteristiche di rischio, ma che non hanno sviluppato l'esito sanitario. Dopo aver selezionato casi e controlli il ricercatore determina quindi lo stato di esposizione in passato dei casi e dei controlli esaminando registrazioni esistenti e informazioni da questionari, o misurando i biomarcatori della passata esposizione. La distribuzione dell'esposizione che si verifica nei controlli fornisce un'indicazione di come sia distribuita l'esposizione nella popolazione fonte; dovrebbe essere anche considerata la distribuzione dell'esposizione che ci aspetteremmo nei casi in cui non esistesse un'associazione tra esposizione ed esito sanitario.

Si è avuto un incremento nell'utilizzo dello studio caso-controllo quando i ricercatori hanno iniziato ad apprezzare la sua efficienza e la sua relazione concettuale con il disegno dello studio di coorte (Breslow & Day 1980; Rothman & Greenland, 1998). L'efficienza dello studio caso-controllo deriva dal non dover aspettare il trascorrere del periodo di induzione fino all'instaurarsi di una patologia cronica, e dalla limitazione del costo della misurazione dell'esposizione nei casi e nei controlli (non è necessario misurare l'esposizione per l'intera popolazione fonte). Esempi di studi caso-controllo includono ricerche su epidemie, come le ricerche sull'epidemia di asma a Barcellona, in Spagna (Antò & Sunyer, 1990) e la Sindrome da olio tossico (TOS), sempre in Spagna. Nell'ultimo studio, i ricercatori ottennero le storie alimentari di 124 casi con TOS e 124 soggetti senza la patologia. Entrambi i gruppi avevano un retroterra socio economico simile. Tutti i pazienti con TOS riferirono il consumo di olio da cucina commercializzato illegalmente, mentre solo il 6,4% dei controlli avevano consumato l'olio. Questa osservazione condusse a studi ulteriori che stabilirono il ruolo dell'olio contaminato nel determinare la TOS, anche se la tossina nell'olio non venne identificata.

Gli studi caso-controllo sono stati ampiamente usati per studiare il ruolo dei fattori ambientali nello sviluppo di diversi tipi di tumori. Gli esempi includono studi sul tumore del polmone ed esposizione residenziale a radon (Samet, 1989; Lubin, 1994); tumori infantili e leucemie ed esposizione residenziale a radiazioni elettromagnetiche (Lindon *et al.*, 1991; Savitz *et al.*, 1993; Washburn *et al.*, 1994); tumori della mammella ed esposizione a pesticidi quali il *p,p'*-DDT (Wolff *et al.*, Krieger *et al.*, 1994); tumore del polmone e inquinamento degli ambienti domestici in Cina (Liu *et al.*, 1993); leucemie e soggetti esposti alle ricadute radioattive dei test nucleari in USA (Stevens *et al.*, 1990). Questo tipo di studio è stato applicato anche alle malformazioni congenite e ad altri esiti riproduttivi associati con esposizione a pesticidi e contaminanti presenti nelle acque potabili (si veda ad esempio Goldberg *et al.*, 1990).

Il disegno caso-controllo è stato anche usato per aumentare l'efficienza nello studio di coorti di popolazione. Se l'informazione sufficiente è disponibile per l'identificazione della coorte, ma i costi per ottenere informazioni dettagliate sull'esposizione o sui fattori confondenti sono proibitivi, il ricercatore può condurre un'analisi caso-controllo entro una coorte di popolazione. In questo caso i dati sullo stato dell'esposizione e sugli altri fattori di rischio saranno richiesti solo per i casi e i controlli. Questo disegno è conosciuto come studio **caso controllo innestato nella coorte**.

### Disegno dello studio caso controllo

I passi principali nella conduzione di uno studio caso controllo sono:

- stabilire la definizione di caso;
- stabilire i criteri per la popolazione in studio e identificare il supporto di campionamento per la selezione dei casi;
- identificare il supporto di campionamento appropriato per selezionare i controlli;
- valutare l'esposizione pregressa e altre caratteristiche rilevanti per casi e controlli;
- confrontare l'esposizione pregressa per casi e controlli al fine di stimare l'associazione tra esposizione ed esito sanitario.

### **Identificazione dei casi**

Generalmente gli studi caso controllo sono basati su esiti sanitari che sono registrati ufficialmente, quali la mortalità o l'incidenza tumorale in aree coperte da registri tumori, o su condizioni che richiedono il ricovero ospedaliero. L'utilizzo di questi archivi è efficiente e conveniente dal punto di vista dei costi. Esempi possibili includono gli studi sul tumore del polmone, sui tumori infantili, sulle leucemie e sulle malformazioni congenite menzionati precedentemente.

Molti studi caso controllo sono basati su pazienti ricoverati in ospedale o visitati in cliniche mediche per varie malattie. Questi studi hanno diversi vantaggi. I soggetti e i relativi dati sono facilmente accessibili; i soggetti sono generalmente cooperativi; le caratteristiche generali di base dei casi e dei controlli dovrebbero essere bilanciate se entrambi i gruppi si rivolgono alla stessa clinica o ospedale, e la disponibilità di dati medici e campioni biologici rende la raccolta delle informazioni sull'esposizione relativamente facile. Usare casi ospedalieri è tuttavia appropriato solo se gli esiti sanitari analizzati risultano nei ricoveri. Quindi, sebbene la selezione dei casi in ospedale possa essere una scelta valida per studiare condizioni quali i tumori, non lo è per lo studio delle dermatiti. Se si devono selezionare pazienti ospedalieri, il ricercatore dovrebbe conoscere i motivi per i quali i pazienti si rivolgono a quell'ospedale, al fine di identificare la vera popolazione di base.

I casi estratti da popolazioni sono l'alternativa principale ai casi ospedalieri. Adottare questa linea significa includere come casi tutti quelli incidenti per l'esito in studio in un'area geografica definita, senza riguardo alla fonte o al meccanismo in base al quale i casi sono stati identificati. Si può in questo modo usare una combinazione di casi che si sono presentati negli ospedali di una data zona nonché in altre strutture di cura e che si sono rivolti ai medici di base. I vantaggi di un approccio di popolazione nella raccolta dei casi sono che la popolazione fonte dei casi è meglio definita rispetto all'approccio ospedaliero; l'accertamento dei casi e dei controlli derivanti dalla stessa popolazione fonte è più diretto, ed è più probabile che le storie espositive dei casi riflettano quelle dei soggetti della popolazione fonte che non manifestano la malattia di interesse. Lo svantaggio di questo approccio è dato dal fatto che si può incorrere in spese molto elevate quando si deve stabilire quale sia la rete di personale utile ad identificare i casi da fonti multiple.

### **Selezione dei controlli**

La scelta del gruppo di controllo è dettata da:

- fonte da cui ricavare i casi;
- costo relativo dei diversi approcci per l'identificazione dei controlli;
- strutture sanitarie accessibili al ricercatore che conduce lo studio.

I controlli dovrebbero essere soggetti estratti dalla popolazione fonte, che sarebbero stati considerati casi se avessero sviluppato la patologia studiata (Axelson, 1985). I tre gruppi di controllo più comunemente usati sono: un campione casuale della popolazione da cui sono stati selezionati i casi; soggetti che richiedono cure presso le stesse strutture dei casi per situazioni morbose ritenute non correlate con l'esito in questione; vicini dei casi. Meno frequentemente si usano come controlli amici, compagni di scuola, cugini e colleghi di lavoro.

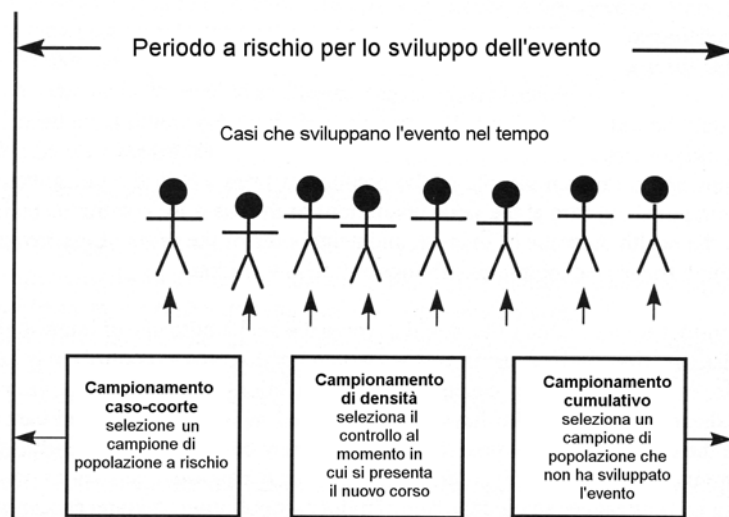
Benché i controlli siano individui che potrebbero sviluppare l'esito sanitario in studio, non devono essere necessariamente sani. Nei fatti, utilizzare come controlli persone affette da altre patologie può essere una soluzione efficiente. In uno studio sul tumore del polmone basato su un registro tumori di popolazione, ad esempio, possono essere definiti come controlli quei soggetti che sono registrati come portatori di tumori in sedi non correlate con l'esposizione ambientale di interesse. Allo stesso modo, se i casi sono identificati mediante registri ospedalieri, altri pazienti ospedalieri possono essere usati come controlli. Per esempio, Liu e colleghi hanno studiato il ruolo dell'inquinamento degli ambienti confinati e il tumore del polmone in Cina, selezionando i casi incidenti di tumore polmonare e come controlli i pazienti, accoppiati per ciascun caso, ricoverati per trattamento chirurgico presso lo stesso ospedale (Liu *et al.*, 1993). Pazienti ricoverati per tumori maligni, malattie polmonari cronico ostruttive, malattie coronariche furono esclusi per minimizzare il confondimento dovuto a fumo di sigaretta.

Se i casi comprendono tutti quegli individui, entro una popolazione definita, che sviluppano la malattia, il miglior gruppo di controllo sarà, in generale, un campione di individui della stessa popolazione fonte dei casi. Ma identificare il gruppo di controllo può essere costoso a meno che il campionamento non sia basato su archivi esistenti, quali numero identificativo assicurativo, patenti di guida o elenchi telefonici. Sono stati sviluppati metodi, quali le numerazioni telefoniche casuali, che permettono di utilizzare il telefono per identificare un gruppo di controllo rappresentativo di una popolazione di base ampia.

Un'altra importante considerazione per identificare le fonti di controlli è il tipo di informazione che ci si aspetta di ricavare. Per esempio, se si devono ottenere frammenti di tessuto o altri campioni biologici dai controlli per verificare la diagnosi, o per misurare un marcatore di esposizione o di suscettibilità, si devono selezionare i controlli tra pazienti ospedalizzati o persone ricoverate in cliniche mediche. Nel selezionare una popolazione di controllo è spesso necessario soppesare la maggior semplicità logistica offerta dall'utilizzo di controlli ospedalieri con la maggior generalizzabilità dei risultati quando si utilizzino controlli di popolazione.

Ci sono tre principali approcci nella selezione dei controlli - il campionamento cumulativo, il campionamento di densità e il campionamento caso-coorte - che dipendono dal momento in cui sono selezionati i controlli in relazione ai casi incidenti (vedi Figura 6.6). Il **campionamento cumulativo** richiede la selezione dei controlli dai soggetti della popolazione fonte che non hanno sviluppato l'esito sanitario entro la fine del periodo di osservazione. Questo approccio è diffuso perché è diretto, ma rende difficile l'interpretazione per popolazioni dinamiche, dal momento che i periodi di osservazione non sono necessariamente gli stessi per i soggetti che devono essere confrontati (visto che i controlli, a differenza dei casi, sono sopravvissuti fino alla fine del periodo di osservazione).

**Figura 6.6 Campionamento in uno studio caso controllo**



Il **campionamento di densità** (campionamento del risk-set) è l'approccio più comune per gli studi caso controllo di popolazione. I controlli sono selezionati tra le persone della popolazione a rischio (cioè tra coloro che potrebbero sviluppare la malattia) man mano che insorgono i casi. In altre parole, ogni qual volta si manifesta un caso, il ricercatore campiona dalla popolazione fonte uno o più controlli che non hanno ancora sviluppato la malattia. Il gruppo di controllo perciò fornisce una rappresentazione accurata del periodo a rischio nello stesso momento in cui insorgono i casi. Uno studio caso controllo sul tumore del polmone ed esposizione a radon, nel quale è stato usato il metodo delle numerazioni telefoniche casuali per identificare controlli di popolazione per ogni caso di tumore riportato dal registro tumori che si presentava nel tempo, è un esempio di campionamento di densità.

**Il campionamento caso-coorte** non è usato frequentemente come i campionamenti di incidenza cumulativa o di densità. Un gruppo di controllo è campionato dalla popolazione fonte all'inizio del periodo a rischio, prima che si siano verificati i casi. Un esempio potrebbe essere uno studio dei residenti in un'area selezionata come futura sede di uno stabilimento industriale. Prima di costruire lo stabilimento, si può estrarre un campione casuale dei residenti. In seguito, l'area di residenza dei casi incidenti potrà essere confrontata con l'area di residenza dei controlli selezionati all'inizio dello studio. Perciò la stima della distribuzione dell'esposizione nella popolazione base è calcolata prima dell'apparizione dei casi; è anche possibile, spesso, usare lo stesso gruppo di controllo per esaminare differenti esiti sulla salute. Ma questo disegno dello studio può essere usato solo se un'intera popolazione fonte, o una coorte, può essere chiaramente identificata. Per questo motivo questo disegno gioca un ruolo maggiore in epidemiologia occupazionale che negli studi di epidemiologia ambientale, perché le coorti occupazionali sono più facili da identificare, a patto che siano disponibili archivi lavorativi.

#### **Appaiamento dei controlli (Matching)**

L'appaiamento dei controlli è una metodologia utilizzata per selezionare i controlli in modo che le distribuzioni di quei fattori di rischio scelti *a priori* siano identiche, o quasi, nei casi e nei controlli. L'efficienza dell'analisi statistica viene migliorata dal fatto che casi e controlli sono resi il più confrontabile possibile in relazione a variabili che potrebbero agire come confondenti dell'associazione in studio.

In uno studio su esposizione a radon e tumore del polmone, i controlli potrebbero essere appaiati ai casi per età, genere, abitudine al fumo di sigaretta, visto che ciascuna di queste variabili potrebbe rappresentare un fattore di rischio per il tumore del polmone e potrebbe anche essere associata con l'esposizione individuale cumulativa a radon. Se non si conducesse l'appaiamento in studi di questo tipo, i casi probabilmente includerebbero una proporzione maggiore di persone anziane, di uomini e di fumatori rispetto ai controlli selezionati casualmente dalla popolazione. Qualora si prevedessero aggiustamenti per questi altri fattori in fase di analisi, lo studio sarebbe condotto in modo inefficiente, perché necessiterebbe di un più ampio gruppo di controllo.

Con l'eccezione dei casi di popolazioni in studio molto piccole o di distribuzioni peculiari dei fattori di rischio tra i casi, i ricercatori hanno generalmente ritenuto adeguati gli approcci dell'appaiamento per frequenza, o del campionamento probabilistico, per aumentare la comparabilità tra i gruppi dei casi e dei controlli (vedi il paragrafo 6.3 per ulteriori approfondimenti sulla tecnica dell'appaiamento dei controlli).

#### **Punti di forza e limitazioni**

Il disegno caso-controllo presenta diverse interessanti caratteristiche. E' efficiente nello studio di patologie rare, specialmente quelle che presentano un lungo periodo di induzione, ed è spesso meno costoso e meno lungo da condurre rispetto al disegno dello studio di coorte prospettico. Il fatto di selezionare i soggetti in studio sulla base di un esito sanitario, inoltre, permette al ricercatore di poter analizzare il ruolo giocato dai molteplici fattori ambientali.

Gli studi caso-controllo sono anche vantaggiosi per studiare popolazioni di tipo dinamico, che potrebbero rivelarsi difficili da seguire utilizzando un disegno dello studio di coorte. Se, ad esempio, si dovesse valutare l'associazione tra un'esposizione ambientale, come il radon e l'incidenza di cancro del polmone, sarebbe difficile seguire quei soggetti della coorte che sono entrati a far parte della comunità esposta o che l'hanno lasciata. In alternativa, un campione della popolazione dinamica costituito da individui che hanno sviluppato il tumore del polmone ed un altro campione di individui simili provenienti dalla stessa popolazione, ma che non abbiano sviluppato il tumore del polmone al tempo della diagnosi avvenuta nei casi, potrebbero fornire informazioni utili a stimare la distribuzione dell'esposizione all'interno della popolazione dinamica.

Due dei principali svantaggi degli studi caso-controllo sono dovuti al fatto che non è semplice individuare una corretta popolazione di controllo e che si possono introdurre grandi distorsioni (*bias*) nel classificare l'esposizione, dal momento che essa è attribuita successivamente all'instaurarsi della patologia. Queste distorsioni possono determinarsi in molti modi. L'evento sanitario di per sé può inci-

dere, direttamente o indirettamente, sulla misura dell'esposizione. Per esempio, individui che manifestano sintomi respiratori potrebbero deliberatamente evitare l'esposizione al fumo di tabacco. Se essi successivamente partecipassero ad uno studio caso-controllo sulle patologie respiratorie, quello studio probabilmente sottostimerebbe l'associazione tra patologie respiratorie ed esposizione a fumo di sigaretta. Distorsioni simili possono essere preoccupanti anche nel caso in cui siano stati utilizzati indicatori biologici come indicatori di passata esposizione. Per esempio, nei casi di tumore, alcuni ricercatori hanno utilizzato le concentrazioni di pesticidi organo clorurati nel tessuto adiposo come indicatori di avvenuta esposizione. Ma questa misura potrebbe non aver riflettuto davvero una esposizione pregressa se alcuni cambiamenti metabolici, che avrebbero alterato l'immagazzinamento e la distribuzione nel corpo dei pesticidi, fossero risultati associati proprio all'insorgenza della malattia (Wolff *et al.*, 1993). Un altro tipo di problema riguarda il ricordo dell'esposizione da parte dei soggetti in studio. Molti studi caso-controllo sono basati sul ricordo dei soggetti circa le pregresse esposizioni, ma i casi tendono a richiamare alla mente le passate esposizioni più dei controlli, che hanno meno motivazioni a ricordare tali circostanze. E' anche possibile che la consapevolezza da parte dei ricercatori del gruppo di lavoro circa le condizioni di malattia del soggetto influenzi le loro modalità di misurazione o registrazione delle condizioni di esposizione.

Un altro svantaggio di questo disegno dello studio è dato dal fatto che l'analisi non può condurre direttamente a stime di tassi di incidenza, differenze tra tassi o rischio attribuibile di quell'evento sanitario, mentre è possibile stimare questi parametri tramite studi di popolazione.

### **Gli studi trasversali**

Gli studi trasversali analizzano l'associazione tra una esposizione ambientale e la prevalenza della malattia, ad esempio la proporzione della popolazione toccata da un certo evento sanitario in un preciso istante o durante un breve periodo di tempo. La stima dell'esposizione e la misura delle caratteristiche personali e degli effetti biologici sono condotte nello stesso tempo. Per esempio i ricercatori possono occuparsi dello studio della funzionalità respiratoria in una popolazione apparentemente sana e allo stesso tempo porre domande sull'esposizione ad inquinamento atmosferico indoor e a fumo di sigaretta. La Tabella 3.2 riporta come esempio i risultati di uno studio trasversale sulla prevalenza di disturbi respiratori e l'esposizione alle emissioni delle automobili.

Generalmente gli studi trasversali sono intrapresi prima di pianificare studi di coorte o studi caso-controllo, a causa dei costi generalmente poco elevati e della possibilità di essere conclusi in breve tempo. Tuttavia gli studi trasversali non possono essere realmente visti come forma più rapida degli altri tipi di studi poiché analizzano eventi prevalenti piuttosto che incidenti. Un disegno dello studio di questo tipo potrebbe quindi essere utilizzato per analizzare il rischio di patologia cronica polmonare in conseguenza dell'inquinamento atmosferico ma non potrebbe essere applicato per analizzare la mortalità respiratoria, essendo questo un evento di tipo incidente. A prescindere da questa differenza nella natura dell'evento sanitario, gli studi trasversali sono strutturati ed analizzati nello stesso modo degli studi di coorte o caso-controllo.

In epidemiologia ambientale uno dei principali usi di questo disegno dello studio è quello di valutare il ruolo di esposizioni che si risolvono in sintomatologie e alterazioni biologiche, come l'anemia o la diminuzione della funzionalità del polmone, ma che non inducono necessariamente l'individuo a ricorrere a cure mediche. In molti casi i cambiamenti biologici sono studiati come indicatori precoci di rischio per lo sviluppo della patologia o per la mortalità. Gli studi trasversali si sono rivelati efficaci nello studio di condizioni croniche quali l'ipertensione, le broncopneumopatie cronico-ostruttive e le artriti, così come anche nello studio di patologie per le quali residuano sintomi cronici, come nel caso dell'ictus cerebrale e della malattia coronarica.

Gli studi trasversali sono spesso intrapresi in popolazioni specifiche in risposta a preoccupazioni circa esposizioni a fonti puntiformi sul territorio, come un impianto industriale, una discarica di materiale tossico-nocivo oppure nel caso in cui si osservino incrementi nei tassi di eventi sanitari specifici. Si vedano Kreiss *et al.* (1981), Jakkola *et al.* (1990) e Marttila *et al.* (1994), Dales *et al.* (1989),

Ozonoff *et al.* (1987) e Baker *et al.* (1988) per esempi relativi, rispettivamente, alla presenza di un'industria di produzione di DDT, di cartiere, di una raffineria di gas metano e di discariche di materiale tossico-nocivo. Questo approccio risulta vantaggioso nel caso in cui si debbano studiare molteplici possibili esposizioni e una serie di eventi sanitari. I risultati degli studi trasversali possono allora essere utilizzati per mettere a punto uno studio di coorte o uno studio caso-controllo che focalizzi ulteriormente il problema.

Gli studi trasversali possono anche essere basati su campioni di popolazione utilizzati in indagini svolte a livello nazionale, come l'indagine USA sulla Nutrizione e sulla Salute (*US National Health and Nutrition Survey*). In uno studio che ha valutato l'associazione tra esposizione a piombo e ipertensione, sono stati utilizzati ad esempio i dati derivanti da un'indagine nazionale sullo stato di salute intrapresa negli Stati Uniti, mettendo a confronto la pressione sanguigna degli intervistati con le concentrazioni di piombo rilevate nel sangue (Schwartz *et al.*, 1986). I dati derivanti da questa indagine sono stati utilizzati anche per studiare l'associazione tra esposizione ad inquinamento atmosferico e funzionalità polmonare (Schwartz, 1989) e per identificare fattori di rischio per l'asma in età pediatrica (Gergen *et al.*, 1988).

#### **Disegno dello studio di tipo trasversale**

Le fasi cruciali nella conduzione di uno studio trasversale sono:

- identificare la popolazione base;
- scegliere un disegno di campionamento e le fonti di reclutamento dei partecipanti;
- misurare sia le condizioni di esposizione che lo stato di salute dei soggetti selezionati.

#### **Selezione della popolazione in studio**

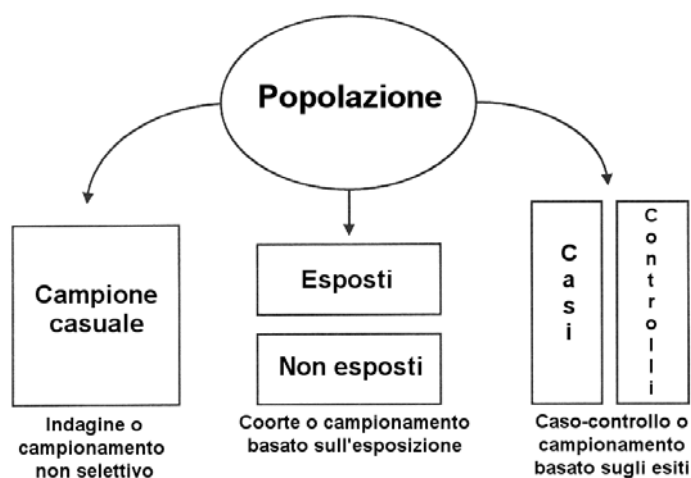
La scelta delle fonti di reclutamento è particolarmente importante per gli studi di tipo trasversale, dal momento che sono generalmente utilizzati per studiare effetti sulla salute per i quali non è possibile identificare una popolazione a partire dai dati di mortalità o da informazioni contenute nelle cartelle cliniche. Le fonti di reclutamento includono le liste di censimento di tutti i nuclei familiari che compongono una certa comunità, licenze di guida, registri elettorali, dati sanitari e altri dati pubblici. Se non è disponibile una specifica fonte di campionamento i ricercatori devono mettere a punto una metodologia di campionamento che permetta di ottenere un campione rappresentativo della popolazione base. In molti studi di comunità, i ricercatori hanno concluso che la migliore copertura e le più alte percentuali di adesione si raggiungono quando il gruppo di lavoro si muove "porta-a-porta" per identificare i soggetti e richiedere la loro partecipazione.

Per gli studi di tipo trasversale le popolazioni possono essere selezionate attraverso tre possibili metodologie. Le motivazioni da considerare nella scelta fra queste riguardano gli obiettivi dello studio, la prevalenza dell'esposizione e degli esiti sulla salute e la disponibilità o meno di una fonte di reclutamento da utilizzare per individuare le condizioni di esposizione o gli esiti sanitari (vedi Figura 6.7).

La metodologia più comune probabilmente è quella di condurre un campionamento casuale della popolazione senza considerare le condizioni di esposizione o gli esiti sanitari, per esempio tramite indagini campionarie (*survey*) o campionamenti censuari. Questo approccio è conveniente per analizzare molteplici condizioni espositive e differenti effetti sulla salute. Gli studi trasversali già citati che erano basati sull'analisi di dati di *survey* nazionali sono un esempio di questo approccio, in cui la stessa popolazione in studio viene utilizzata per analizzare un certo numero di associazioni tra esposizioni ed effetti sulla salute. Questo metodo viene utilizzato anche quando non risulta possibile stabilire le condizioni di esposizione o gli esiti sanitari prima di aver selezionato la popolazione in studio. Per esempio, Sears ed i suoi collaboratori condussero un'indagine medica tra 562 undicenni in Nuova Zelanda per valutare la relazione tra livello delle IgE nel siero, come indicatore di diatesi allergica e ipersensibilità delle vie aeree a metacolina inalata (Sears *et al.*, 1991). I ricercatori inclusero nello studio tutti i bambini nati all'ospedale materno-infantile regionale undici anni prima e che risiedevano ancora in quella provincia. E' stata utilizzata questa strategia in quanto era necessario condurre l'indagine per stabilire sia i livelli di IgE nel siero che la ipersensibilità delle vie aeree.

I ricercatori possono decidere di invitare tutti i membri di una certa comunità a partecipare all'indagine, se la comunità è piccola o se ritengono non conveniente includere alcuni soggetti escludendone altri. Lo studio condotto da Kreiss e i suoi collaboratori (1981), che invitarono tutti i residenti di un piccolo centro situato nei pressi di una industria di produzione di DDT a partecipare all'indagine medica è un esempio di indagine condotta su una comunità intera. Lo studio rilevò che la media geometrica dei livelli di DDT nei campioni di siero dei residenti in studio era di 72,2 ng/mL, mentre quella nazionale era di 15,0 ng/mL. Nella comunità il livello totale di DDT aumentava con l'età ed era associato con il consumo alimentare di pesce e con gli anni di residenza. L'approccio seguito permise ai ricercatori di stabilire i livelli medi di DDT nella comunità e di analizzare diversi fattori di rischio associati con le concentrazioni rilevate nel siero.

**Figura 6.7 Strategie di campionamento negli studi trasversali**



Un'altra strategia comunemente usata dai ricercatori è quella di selezionare la popolazione in studio in base alle condizioni espositive. Questa metodologia è utilizzata soprattutto quando l'obiettivo dello studio è quello di stabilire il rischio legato ad una specifica esposizione ambientale. Come per gli studi di coorte, selezionare i soggetti sulla base delle condizioni di esposizione risulta efficace se la prevalenza di esposizione nella popolazione base è relativamente piccola, in quanto l'attenzione si concentra su quegli individui che contribuiscono all'analisi epidemiologica. Per utilizzare questa strategia, deve essere possibile identificare le condizioni di esposizione dei soggetti prima che essi vengano selezionati per lo studio. Generalmente questo è possibile in uno dei due modi seguenti, che corrispondono all'utilizzo di controlli interni o esterni negli studi di coorte: i ricercatori possono utilizzare i dati già esistenti sull'esposizione o per identificare una popolazione esposta ed una non esposta, a scopo di confronto, oppure per identificare sotto gruppi, per condizioni espositive, all'interno di una stessa popolazione.

Jakkola e collaboratori utilizzarono l'approccio del confronto esterno nello studio dei disturbi respiratori nella popolazione residente nei pressi di cartiere in Finlandia (Jakkola *et al.*, 1990; Marttila *et al.*, 1994). Essi condussero un'indagine basata su questionari in tre comunità che classificarono attraverso tre livelli di esposizione: molto esposta, moderatamente esposta o non esposta. Essi osservarono che, nei precedenti 12 mesi, la sintomatologia oculare era stata riferita 11.7 volte più frequentemente tra i residenti nella comunità molto esposta rispetto ai residenti nella comunità non esposta, e la sintomatologia nasale 2 volte più frequente.

La terza strategia per la scelta della popolazione in studio è rappresentata essenzialmente dal disegno dello studio tipo caso-controllo, in cui i soggetti sono identificati sulla base delle condizioni di salute. Si rivela un metodo efficiente se la proporzione di popolazione che manifesta la patologia in studio è relativamente piccola e serve ad analizzare l'associazione tra la prevalenza della malattia e

l'esposizione ambientale. I soggetti possono essere reclutati sulla base delle condizioni di salute, se sono disponibili registrazioni di dati sanitari attinenti lo studio. Per esempio, le cartelle cliniche di un ospedale potrebbero essere utilizzate per identificare bambini con una diagnosi di asma e un gruppo di controllo composto da bambini ricoverati presso lo stesso ospedale, ma che non hanno l'asma. Questi bambini potrebbero quindi essere invitati a partecipare ad una ricerca che analizzi quali siano i fattori di rischio ambientale per l'asma. Se non sono disponibili registrazioni di dati potrebbe essere ancora efficace utilizzare un disegno a due stadi, vagliando in primo luogo lo stato di salute della popolazione e, successivamente, conducendo un'indagine più dettagliata dei casi e dei controlli che stabilisca le condizioni di esposizione.

#### **Valutazione degli effetti sulla salute**

La misura dell'occorrenza degli esiti sanitari utilizzata negli studi trasversali è la prevalenza, cioè la proporzione di persone, all'interno del gruppo, affette dall'evento sanitario in un determinato istante. In pratica, molti studi trasversali analizzano di fatto la prevalenza periodale piuttosto che quella puntuale per esiti relativi a sintomatologie. La prevalenza puntuale è il numero di casi esistenti in un determinato istante, mentre la prevalenza di periodo è data dal numero di casi in uno specifico intervallo temporale. I casi includono i casi esistenti all'inizio dell'intervallo temporale considerato più quelli incidenti durante tale lasso di tempo. Per esempio, tramite questionario si può chiedere se i soggetti abbiano avuto attacchi di mal di testa o di respiro affannoso nei tre mesi passati piuttosto che chiedere semplicemente se abbiano tale sintomatologia al momento dell'indagine. Sebbene esistano sottili differenze nell'interpretazione, molti ricercatori analizzano e interpretano queste misure di prevalenza periodale come se fossero misure di prevalenza puntuale.

#### **Punti di forza e limitazioni**

Se si intende analizzare un esito sulla salute prevalente, uno studio trasversale può rappresentare una scelta efficace, dal momento che generalmente costa e richiede meno tempo nella conduzione rispetto ad una coorte incidente o a uno studio caso-controllo. Effettivamente questo tipo di studio può essere utilizzato per analizzare fattori che non cambiano con l'insorgenza delle malattie, come ad esempio l'appartenenza etnica, il gruppo sanguigno, indicatori genetici di suscettibilità o esposizioni ambientali esterne misurate in modo oggettivo. In qualche modo, le esposizioni misurate tramite questionari o bioindicatori possono essere condizionate dal fatto di misurare simultaneamente l'esito sulla salute. L'insorgenza di una malattia può influenzare il ricordo di esposizioni pregresse e indurre cambiamenti negli indicatori biologici di esposizione, come nel caso della concentrazione di pesticidi organo clorurati nel tessuto adiposo. Le misure trasversali di esposizione, allora, possono essere utilizzate solo se è possibile verificare che non siano influenzate dall'insorgenza della malattia.

Un'altra grave limitazione di questo tipo di studi è data dal fatto che l'interpretazione di associazioni tra esposizione ed esito sulla salute prevalente può essere soggetta a imprecisione. Per esempio, se individui con patologia polmonare si spostano verso zone con concentrazioni inferiori di inquinamento atmosferico, uno studio trasversale potrebbe sottostimare l'associazione tra esposizione a inquinamento atmosferico e rischio di patologie polmonari. Ugualmente, se i genitori di bambini sofferenti di asma riducessero il numero di sigarette fumate: un'indagine trasversale condotta successivamente identificherebbe più difficilmente l'associazione tra l'abitudine al fumo dei genitori, nel passato, e l'insorgenza della patologia asmatica nei bambini.

Dato che l'obiettivo della maggior parte degli studi epidemiologici è quello di stabilire il rischio legato a un'esposizione ambientale nel causare effetti sulla salute, la difficoltà nell'interpretazione dei risultati di uno studio trasversale rispetto al rischio di incidenza della malattia può essere considerata una debolezza.

#### **Studi di serie temporali e "studi panel"**

Gli studi di serie temporali e gli studi panel non sono tipi distinti di disegno dello studio, poiché sono basati su studi di coorte, trasversali e di tipo ecologico. Ma la loro analisi ed interpretazione differisce da quelle dei tipi di studi appena discussi. Negli studi panel e in quelli di serie temporali, osser-



vazioni ripetute di esposizione e di esiti sulla salute sono condotte nel tempo sulla stessa popolazione in studio. L'analisi consiste nel comparare nel tempo le variazioni delle condizioni di esposizione occorse con le variazioni degli esiti sulla salute. Questi disegni dello studio sono maggiormente appropriati nei casi in cui l'intervallo temporale che intercorre tra esposizione ed un certo effetto sulla salute è breve (si studiano propriamente gli effetti a breve termine, n.d.t.), come nei casi di sintomi respiratori o funzionalità polmonare, permettendo di stabilire se un cambiamento nell'esposizione sia associato con un effetto sulla salute.

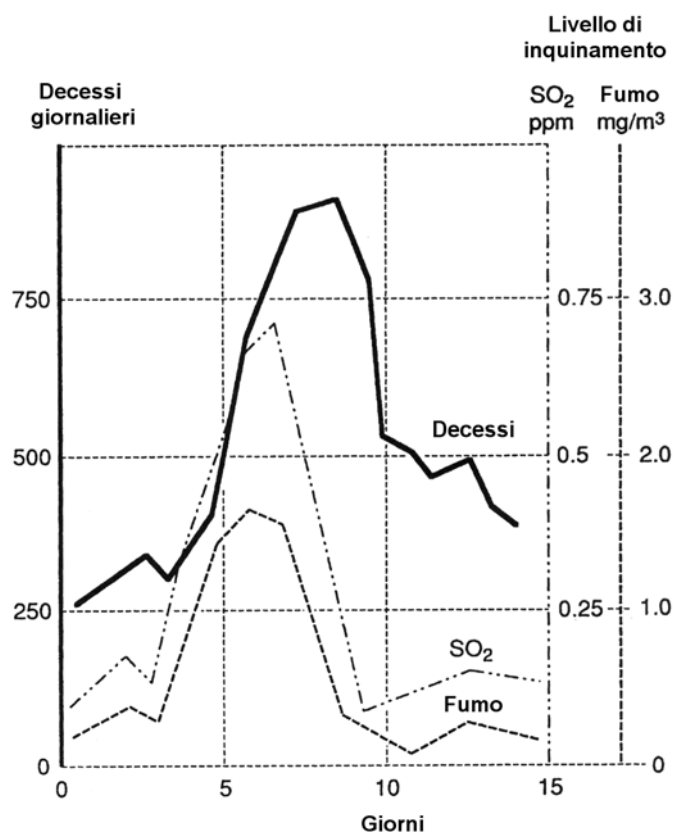
Comunemente gli studi di serie temporali si basano su misure aggregate, o ecologiche, di esposizione ed eventi sanitari, sebbene analisi simili possano essere condotte su osservazioni individuali di esposizione o di effetti. Il termine "studio panel" generalmente si utilizza per indicare studi che comportano ripetute osservazioni dei soggetti, anche se concettualmente il disegno è lo stesso di quello di uno studio di serie temporali nel quale l'analisi esamina la correlazione tra condizioni di esposizione ed esiti sanitari nel tempo.

### **Studi di serie temporali**

Uno studio di serie temporale basato su dati aggregati è essenzialmente uno studio ecologico di confronto temporale, che analizza l'associazione tra una variabile di esposizione e una variabile di effetto sulla salute. Gli studi di serie temporali hanno giocato un ruolo importante nell'epidemiologia dell'inquinamento atmosferico, ad esempio nella ricerca degli effetti acuti degli inquinanti ambientali. Uno degli esempi più conosciuti di studi di serie temporali è quello legato all'episodio dello smog di Londra del 1952 (United Kingdom Ministry of Health, 1954; WHO, 1991b) (vedi Figura 6.8). Questo caso fu particolarmente drammatico, a causa del numero enorme di morti e degli straordinari livelli di inquinamento raggiunti.

Schwartz e Marcus (1990), successivamente, esaminarono l'associazione tra mortalità giornaliera e livelli di "British Smoke" a Londra nel periodo 1958-1972. (Il "British Smoke" fu misurato in modo specifico, per questo i livelli di esposizione non possono essere facilmente convertiti alle attuali unità di misura). Utilizzando modelli autoregressivi, essi trovarono un'associazione altamente significativa tra mortalità e incrementi di particolato o di diossido di zolfo, avendo controllato per temperatura ed umidità. La Figura 6.9 mostra la relazione dose-risposta tra livelli di "British Smoke" e mortalità giornaliera. Gli studi ecologici di serie temporali sono stati utilizzati dai ricercatori per studiare anche gli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla mortalità (es. Pope *et al.*, 1992, Kunst *et al.*, 1993), sui ricoveri ospedalieri (es. Bates & Sizto, 1987; Bates *et al.*, 1990; Pope, 1991), sugli accessi al pronto soccorso per asma (es. Bates *et al.*, 1990). Questi studi hanno evidenziato un'associazione tra incrementi nelle concentrazioni del particolato aerodisperso e tassi degli esiti sanitari, anche a concentrazioni che non sono generalmente considerate pericolose per la salute (Dockery & Pope, 1994). Sebbene le analisi di serie temporali di dati ecologici siano state usate con successo nell'epidemiologia legata all'inquinamento atmosferico, le applicazioni in altre aree dell'epidemiologia ambientale sono state limitate. Questo perché generalmente non si dispone di grandi basi di dati di ripetute misurazioni di esposizione, ed anche perché l'intervallo temporale tra esposizione e insorgenza degli effetti sulla salute è generalmente troppo lungo.

Figura 6.8 Mortalità ed inquinamento atmosferico a Londra, 1952



Fonte: Beaglehole et al., 1993; adattato dal Ministero della Salute, Gran Bretagna, 1954

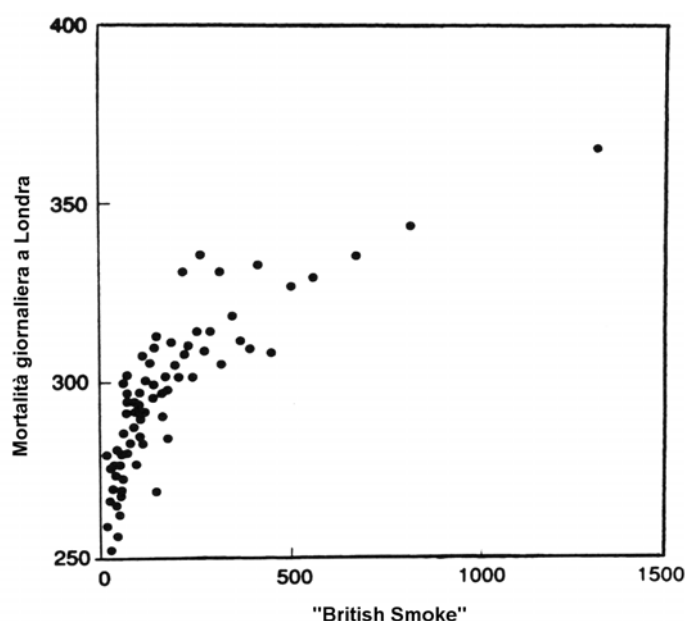
La maggior parte delle analisi di serie temporali sono state condotte utilizzando grandi basi di dati esistenti contenenti variabili ambientali, come livelli giornalieri di inquinamento dell'aria e variabili sanitarie, come numero di ricoveri ospedalieri giornalieri. I ricercatori uniscono tra loro queste fonti di dati e utilizzano tipicamente modelli di regressione per il controllo del periodo di latenza, dell'autocorrelazione e degli effetti di fattori che variano in relazione con l'esposizione (come le condizioni meteorologiche e la temperatura negli studi sull'inquinamento atmosferico).

#### Gli studi panel

In uno studio panel il ricercatore segue il soggetto nel tempo, misurando in modo ripetuto le condizioni di esposizione e lo stato di salute. Gli studi panel possono essere considerati sia come studi di coorte che come studi di serie temporali, in relazione alle modalità di analisi.

Se per ogni soggetto è stato stabilito il livello di esposizione ed il gruppo è seguito nel tempo per valutare l'incidenza di patologie o cambiamenti nello stato di salute, allora questi studi sono considerati alla stregua degli studi di coorte. L'unica differenza è che si usano ripetuti esami per misurare gli effetti. Questo approccio è utilizzato per studiare eventi sanitari evidenziabili attraverso periodici esami medici, piuttosto che esiti come la morte o il ricovero ospedaliero, rilevabili attraverso l'utilizzo di cartelle cliniche. Per esempio, uno studio sull'incidenza di ipertensione o diabete potrebbe essere intrapreso sottoponendo i soggetti ad esami ripetuti ad intervalli regolari nel tempo. In modo simile Sparrow et al., (1993) valutarono i predittori di insorgenza di dispnea nell'uomo studiando una coorte di 624 uomini, appartenenti allo studio denominato *Normative Aging Study*, che furono esaminati ad intervalli tra i tre ed i cinque anni per un periodo lungo più di venti anni. Essi trovarono che l'abitudine al fumo, l'età e i cambiamenti pressori legati alla postura valutati durante l'esame iniziale erano predittivi della comparsa di dispnea durante gli intervalli temporali.

**Figura 6.9. Mortalità giornaliera ed esposizione a British Smoke a Londra**



*Fonte: Schwartz & Marcus, 1990*

Il termine “studio panel” è utilizzato più comunemente in epidemiologia ambientale per indicare uno studio durante il quale i soggetti sono seguiti nel tempo per misurare la relazione, dipendente dal tempo, tra esposizione ed effetto sulla salute. Questi studi panel dovrebbero essere considerati come studi di serie temporali condotti a livello individuale o, più propriamente, come studi di coorte che includono un’analisi di serie temporale. Questo approccio è stato ampiamente utilizzato per studiare gli effetti respiratori a breve termine dell’inquinamento atmosferico (es. Kryzanowski *et al.*, 1992; Romieu *et al.*, 1992; Ostro *et al.*, 1993). Generalmente si identifica un gruppo di soggetti ai quali viene chiesto di tenere un diario giornaliero per un periodo di diversi mesi, sul quale registrare sintomi, disturbi respiratori e farmaci utilizzati. Ai soggetti viene anche chiesto di annotare le loro attività e gli spostamenti quotidiani (per esempio, al lavoro, a scuola, a casa o all’aperto). Alcuni studi chiedono in aggiunta ai soggetti di misurare il picco di flusso espiratorio una o più volte al giorno utilizzando un apparecchio portatile. Possono anche essere raccolte misurazioni di esposizione giornaliera ad inquinanti atmosferici, come ozono e solfati, ottenendole dalle stazioni fisse di rilevamento della qualità dell’aria o da rilevatori personali.

L’analisi studia quindi la correlazione tra i livelli di esposizione e i sintomi, i disturbi e i picchi di flusso giornalieri, utilizzando metodi per il controllo dell’autocorrelazione esistente tra i soggetti lungo la variabile tempo. Per esempio, un individuo che presenti un determinato giorno un’infezione alle alte vie respiratorie, è probabile che la ripresenti il giorno seguente: le due osservazioni non saranno indipendenti.

#### **Studi di mortalità/morbosità proporzionale**

In uno studio di mortalità o morbosità proporzionale la distribuzione degli esiti sulla salute in una popolazione in studio viene comparata alla distribuzione degli stessi esiti in un’altra popolazione. Per esempio, si potrebbero esaminare i certificati di morte di tutte le persone decedute in una particolare area vicino ad un impianto di smaltimento di rifiuti tossico-nocivi, per stabilire la proporzione di decessi per tumore del fegato. Questa percentuale dovrebbe essere messa a confronto con la proporzione di decessi per tumore del fegato avvenuti nella popolazione generale attraverso il tasso di mortalità proporzionale. Caratteristica peculiare di questo tipo di studi è il fatto che nessuna informazione tiene conto direttamente delle caratteristiche dell’intera popolazione fonte, in quanto tutti i soggetti in esame hanno manifestato un esito sulla salute. Questo tipo di studi è quindi fundamentalmente differente da altri disegni di studi epidemiologici. La valutazione della proporzione relativa di esiti sanita-

ri è possibile unicamente attraverso il confronto delle due serie di dati sugli esiti. Poiché uno studio di mortalità/morbosità proporzionale compara individui che hanno manifestato un effetto di interesse (ad esempio una specifica causa di morte o di ricovero) e altri effetti sulla salute, alcuni ricercatori hanno suggerito che questi studi dovrebbero essere considerati come una variante degli studi caso-controllo (Rothman & Greenland, 1998). I metodi di analisi (ad esempio l'utilizzo di odds ratio, come discusso nel Capitolo 7) sono simili.

Uno studio di mortalità proporzionale tipicamente viene condotto come fase iniziale nell'accertamento di un'epidemia, se il fatto che preoccupa è un apparente eccesso di mortalità o di morbosità. Questo tipo di studi può essere poco costoso e veloce da completare se i dati di mortalità e di morbosità sono prontamente disponibili. Per esempio, i certificati di morte di tutte le persone decedute in una determinata regione possono essere richiesti ad enti pubblici. Poter disporre di questi dati comporta di non dover necessariamente né enumerare né campionare la popolazione base.

Tuttavia questo disegno dello studio presenta sostanziali punti di debolezza che possono limitare la validità e l'interpretazione dello studio. Ad esempio, i certificati di morte o i dati di morbosità potrebbero essere incompleti e quindi non rappresentare accuratamente gli esiti sanitari occorsi nella popolazione. Questo potrebbe essere il caso di alcuni soggetti della popolazione base, per esempio i disoccupati o i poveri, che hanno minor facilità di accesso a cure mediche rispetto agli altri individui, con il risultato che le loro morti possono essere "perse", o le cause di decesso loro attribuite possono soffrire di misclassificazione. Possono anche intervenire distorsioni se le figure mediche di un paese sono più o meno esperte, rispetto ai medici della regione circostante, nella codifica di specifiche cause di morte, come il mesotelioma maligno. Possono sorgere problemi dal fatto che le diverse popolazioni in studio non risultano comparabili per età, genere o altre caratteristiche. Sfortunatamente, le informazioni su possibili confondenti raramente sono ottenibili dalle registrazioni di dati sui quali si basano gli studi di mortalità/morbosità proporzionale. Inoltre, anche se le popolazioni sono tra loro confrontabili, e le cause di decesso sono complete e codificate in modo corretto, uno studio di questo tipo può incontrare ancora delle difficoltà. Questo perché interpretare il tasso di mortalità proporzionale come stima del rischio relativo presuppone, come assunto, che le due popolazioni abbiano gli stessi tassi di mortalità generale. Ma chiaramente questo non è probabile in situazioni nelle quali è stato osservato un eccesso di rischio di mortalità per causa specifica; un tasso accresciuto per qualche causa di morte specifica fa aumentare il tasso di mortalità generale.

L'approccio di uno studio di mortalità/morbosità proporzionale è quello di ottenere informazioni su una serie di esiti sulla salute, come i decessi attraverso le schede di morte, per una popolazione in studio, ad esempio soggetti deceduti che vivevano in una regione altamente inquinata. Informazioni analoghe dovrebbero essere raccolte sugli esiti di salute occorsi in un'altra popolazione, come ad esempio i decessi tra i residenti in una regione scarsamente inquinata. L'analisi quindi dovrebbe confrontare la distribuzione delle cause di morte registrate nelle due serie di dati per valutare, ad esempio, se siano state registrate proporzionalmente più morti per tumore del polmone nella regione inquinata rispetto a quella non inquinata. Più specificamente i ricercatori potrebbero disporre dei certificati di morte di tutte le persone decedute durante un periodo di cinque anni in una città ubicata nei pressi di un impianto industriale. Dovrebbero quindi comparare le cause di morte tra i residenti in città con la distribuzione di quelle registrate in una circostante regione, non inquinata. Se il 18,9% dei decessi tra i residenti in città fossero attribuiti a cancro del polmone, rispetto al 6,3% di decessi occorsi nella circostante regione non inquinata, il tasso di mortalità proporzionale sarebbe uguale a 3,0. Un simile metodo di analisi potrebbe essere condotto per l'incidenza di tumori se la città e la regione circostante fossero incluse in un registro tumori di popolazione e fossero resi disponibili i dati sull'incidenza dei tumori stessi.

### **Gli studi sperimentali**

Gli studi sperimentali differiscono dagli studi osservazionali fondamentalmente per il fatto che sono i ricercatori a stabilire quali saranno i soggetti esposti. Un esperimento sull'uomo ben disegnato è probabilmente il mezzo più convincente per dimostrare una relazione causale tra esposizione, o preven-

zione dell'esposizione, ed effetti sulla salute. Tuttavia, gli studi sperimentali non sono comuni in epidemiologia ambientale, dal momento che la maggior parte delle esposizioni studiate sono la maggior parte delle volte potenzialmente più dannose che salutari. Uno studio di esposizione controllata sull'uomo può essere intrapreso per misurare gli effetti di una sostanza potenzialmente tossica per l'uomo. Tali studi però sono considerati generalmente studi clinici piuttosto che epidemiologici, dal momento che generalmente sono svolti nell'ambito della ricerca delle industrie farmaceutiche ed includono relativamente pochi soggetti.

Le **sperimentazioni randomizzate controllate** sono studi sperimentali intrapresi per valutare un nuovo regime terapeutico o interventi di prevenzione (Beaglehole, *et al.*, 1993; Lilienfeld & Stolley, 1994). Soggetti che hanno sviluppato la malattia o che sono ad alto rischio di manifestarla sono divisi in modo casuale in gruppi ai quali vengono somministrati trattamenti diversi. Un altro gruppo - il gruppo di controllo - non riceve il trattamento o riceve una terapia già consolidata. Dopo il trattamento i gruppi sono seguiti per stabilire se la terapia sperimentale rivela degli effetti sulla salute col passare del tempo. Gli **studi "sul campo"** sono simili alle sperimentazioni randomizzate controllate, ma includono soggetti sani ad alto rischio, che sono selezionati da una popolazione e studiati "sul campo" invece che in strutture ospedaliere.

I trials randomizzati e le sperimentazioni "sul campo" sono stati applicati con successo alla valutazione di nuove terapie nel trattamento di malattie acute di origine ambientale. Per esempio, è stato intrapreso uno studio, durante un'epidemia di colera in Bangladesh nel 1983, per confrontare soluzioni orali di reidratazione a base di riso e zucchero nel trattamento della diarrea (Molla *et al.*, 1985). In modo simile, studi sulle vaccinazioni sono stati usati per valutare l'efficacia di nuove vaccinazioni nell'ambito della prevenzione di malattie contagiose.

Interventi di tipo ambientale sono spesso applicati a gruppi di soggetti o comunità. **Uno studio sperimentale di comunità**, nel quale più che gli individui, sono le comunità ad essere distribuite in modo casuale per il tipo di intervento, potrebbe quindi rivelarsi più appropriato. Studi sperimentali di comunità hanno incluso studi di comunità per paragonare diversi tipi di trattamenti delle acque di scolo e di clorazione delle acque nella prevenzione delle malattie diarroiche e l'aggiunzione di diverse concentrazioni di fluoro agli approvvigionamenti idrici per la prevenzione della carie dentaria. Uno studio su bambini residenti a New York in comunità servite da reti idriche nelle quali era stato aggiunto fluoruro di sodio è un classico esempio di questo tipo di approccio (Asp & Schlesinger, 1956). Lo studio rilevò un sostanziale decremento nell'incidenza di deperimento, caduta e otturazione dei denti tra i bambini della comunità trattata durante i dieci anni di fluorazione delle acque (vedi Tabella 6.3).

**Tabella 6.3 Decadimento permanente, perdita od otturazione dei denti (DPO) per 100 bambini, fascia di età 6-16 anni, risultanti da esami clinici e roentgenografici condotti dieci anni dopo l'inizio di fluorazione - New York, 1954-55**

Età	Numero di bambini		DPO dei denti per 100 bambini		
	Newburgh (trattato)*	Kingston (controllo)	Newburgh (trattato)*	Kingston (controllo)	Differenza% (N-K)/K*100
6-9	708	913	98.4	233.7	-57.9
10-12	521	640	328.1	698.6	-53
13-14	263	441	610.1	1170.3	-47.9
15-16	109	119	975.2	1648.7	-40.9

\*Dall'inizio di maggio del 1945 si aggiunse del fluoruro di sodio alla rete di approvvigionamento idrico di Newburgh  
Fonte: adattato da Asp & Schlesinger (1956) e Lilienfeld & Stolley (1994).

### Disegno dello studio sperimentale

Uno studio sperimentale consiste essenzialmente nel selezionare due o più gruppi di soggetti casualmente, in modo che siano il più comparabili possibile (Puska, 1991; Lilienfeld & Stolley, 1994). L'esposizione al fattore in studio è quindi assegnata ad uno dei gruppi (generalmente un gruppo di trattamento), ma non all'altro (gruppo di controllo) e si confrontano poi gli esiti sanitari nei due gruppi. I passi da intraprendere sono:

- identificare una fonte di reclutamento, come ad esempio un registro di pazienti ospedalieri;
- selezionare i potenziali soggetti in base a espliciti criteri di idoneità;
- chiedere ai soggetti la loro disponibilità a partecipare allo studio;
- distribuire in modo casuale i soggetti scelti e consenzienti nei gruppi.

**La distribuzione casuale o randomizzazione** dei soggetti è un punto chiave in uno studio sperimentale ben disegnato. I gruppi in studio devono essere il più confrontabili possibile in relazione ad ogni fattore che potrebbe influenzare gli esiti sulla salute. La distribuzione casuale è intrapresa per minimizzare il potenziale confondimento o distorsioni di selezione. Sono state raccomandate diverse tecniche per condurre in modo casuale l'allocazione dei soggetti. Possono essere utilizzate tavole di numeri casuali, che assicurano la casualità dell'assegnazione del trattamento, così non influenzata dagli individui in studio né dai ricercatori. Qualsiasi metodo si utilizzi, i ricercatori dovrebbero misurare le caratteristiche peculiari dei gruppi, al fine di verificarne la comparabilità.

Una volta che è stata condotta l'allocazione dei gruppi, si somministra l'intervento sperimentale ad uno o più di essi. Se si vogliono minimizzare distorsioni nell'osservazione, sia i soggetti che i ricercatori non dovrebbero sapere chi sta ricevendo il trattamento sperimentale. Soggetti e ricercatori dovrebbero cioè condurre l'esperimento "in cieco" per quanto riguarda il trattamento dei soggetti. In studi di trattamenti clinici o regimi preventivi, ai soggetti del gruppo di controllo viene comunemente somministrato un placebo, che sia apparentemente identico al trattamento attivo. In modo simile, in studi sperimentali di esposizioni ambientali, i soggetti non sono informati sul variare delle condizioni espositive. Ad esempio, in studi sperimentali di inquinamento atmosferico indoor, i ricercatori hanno manipolato le proporzioni e le quote di ventilazione di aria fresca fornite ad uffici, ed hanno chiesto ai soggetti di tenere un diario giornaliero sui loro sintomi e disturbi (vedi, per esempio, Menzies *et al.*, 1993; Jakkola *et al.*, 1994). I soggetti non sapevano quando sarebbero cambiati i livelli di ventilazione, perciò non avrebbero potuto essere influenzati da nessuna informazione del genere nel riportare i loro sintomi.

La Tabella 6.4 presenta alcuni risultati di uno studio di Jakkola e collaboratori sulla manipolazione sperimentale di impianti di approvvigionamento dell'aria (70% di aria rimessa in circolo contro 0% o 100% di aria fresca) in due edifici identici (Jakkola *et al.*, 1994). La proporzione di aria riciclata fu alterata negli edifici in una sperimentazione condotta in cieco, di quattro periodi, in cui ogni periodo durava una settimana. Gli occupanti gli edifici non erano stati informati su nessuno dei cambiamenti apportati all'impianto di aerazione, e fu loro richiesto di registrare i disturbi di salute su un diario giornaliero. I ricercatori osservarono che le segnalazioni di sintomi dei 75 soggetti per la fase in esame (aria rimessa in circolo) e la fase di riferimento (tutta aria fresca) non differivano in modo sostanziale.

Generalmente viene somministrato un certo intervento per un periodo di tempo prefissato, ed i soggetti, o le comunità, sono quindi seguiti con lo scopo di valutare lo stato di salute. I metodi per seguire nel tempo i gruppi in studio negli studi sperimentali sono simili a quelli applicati al follow up dei soggetti negli studi di coorte.

Un **disegno cross-over** nel quale ogni soggetto viene arruolato sia nel gruppo esposto (al tempo dell'intervento) che in quello non esposto (in un altro momento), può essere utilizzato negli studi sperimentali. Lo stato di salute di ogni soggetto nella fase in cui è esposto viene messo a confronto con quello in cui non lo è. Questo approccio è stato utilizzato negli studi sull'aria degli ambienti con-

finati citati sopra (Menzies *et al.*, 1993; Jakkola *et al.*, 1994). Il suo vantaggio è che ogni soggetto serve a se stesso come proprio controllo, minimizzando così il potenziale confondimento introdotto dalla non omogeneità dei gruppi. Questo approccio tuttavia può essere utilizzato vantaggiosamente per lo studio di esiti di salute rapidamente reversibili, e con un chiaro legame temporale con l'esposizione. Come nel caso degli studi dell'aria indoor, il disegno cross-over può rivelarsi efficiente per lo studio di disturbi e condizioni soggettive, purché i soggetti registrino i propri sintomi non essendo al corrente delle proprie condizioni di esposizione.

**Tabella 6.4 Probabilità di presentare sintomi in condizioni di 70% di aria riciclata rispetto al totale di aria fresca immessa negli impianti di aerazioni in ufficio**

Esiti	Occorrenza durante il 70% di aria re-immessa in circolazione			Probabilità	
	N. con più sintomi	N. con meno sintomi	N. con uguali sintomi	Stima	95%
				puntuale	IC
Irritazione delle mucose	25	30	17	0.83	0.49, 1.42
Sintomi agli occhi	13	19	40	0.68	0.33, 1.39
Secchezza nasale	22	15	35	1.47	0.76, 2.83
Congestione nasale	20	18	34	1.11	0.59, 2.10
Irritazione faringea	18	20	34	0.90	0.47, 1.72
Reazioni cutanee	21	21	30	1.00	0.58, 1.91
Sintomi cutanei	20	18	34	1.11	0.59, 2.10
Eruzioni cutanee	10	9	53	1.11	0.46, 2.70
Reazioni allergiche	23	33	16	0.70	0.41, 1.18
Secrezioni nasali	14	19	40	0.74	0.38, 1.46
Frequenti starnuti	12	26	34	0.46	0.24, 0.90
Tosse	7	20	45	0.35	0.15, 0.79
Sintomi generici	26	22	24	1.18	0.67, 2.08
Mal di testa	25	16	31	1.56	0.84, 2.89
Apatia, sonnolenza	11	12	49	0.92	0.42, 2.00
Percezione della qualità dell'aria					
Odore sgradevole	9	19	44	0.47	0.21, 1.05
Odore di chiuso	19	19	44	1.00	0.53, 1.89
Polverosa	13	16	43	0.81	0.34, 1.91

Fonte: Jakkola *et al.*, 1994

#### Punti di forza e limitazioni

Gli studi sperimentali sono gli studi più conclusivi, in quanto i ricercatori attribuiscono l'esposizione. Essi permettono anche di valutare l'effetto della dose e analizzare la relazione temporale dal momento in cui si assegna l'esposizione, il trattamento. Gli studi sperimentali, tuttavia, sono limitati per il fatto di poter studiare solo gli effetti a breve termine e gli effetti reversibili di esposizioni potenzialmente dannose, o di trattamenti o di interventi di prevenzione. Inoltre, poiché gli studi sperimentali necessitano del follow-up, condividono alcune limitazioni con gli studi di coorte, principalmente i probabili costi elevati e il fenomeno dei "persi" al follow-up.

La sperimentazione di intervento comunitario è un disegno dello studio sperimentale in tutto e per tutto, se il problema in studio è influenzabile da interventi a livello di comunità. Studi di questo tipo

zione dell'esposizione, ed effetti sulla salute. Tuttavia, gli studi sperimentali non sono comuni in epidemiologia ambientale, dal momento che la maggior parte delle esposizioni studiate sono la maggior parte delle volte potenzialmente più dannose che salutari. Uno studio di esposizione controllata sull'uomo può essere intrapreso per misurare gli effetti di una sostanza potenzialmente tossica per l'uomo. Tali studi però sono considerati generalmente studi clinici piuttosto che epidemiologici, dal momento che generalmente sono svolti nell'ambito della ricerca delle industrie farmaceutiche ed includono relativamente pochi soggetti.

Le **sperimentazioni randomizzate controllate** sono studi sperimentali intrapresi per valutare un nuovo regime terapeutico o interventi di prevenzione (Beaglehole, *et al.*, 1993; Lilienfeld & Stolley, 1994). Soggetti che hanno sviluppato la malattia o che sono ad alto rischio di manifestarla sono divisi in modo casuale in gruppi ai quali vengono somministrati trattamenti diversi. Un altro gruppo - il gruppo di controllo - non riceve il trattamento o riceve una terapia già consolidata. Dopo il trattamento i gruppi sono seguiti per stabilire se la terapia sperimentale rivela degli effetti sulla salute col passare del tempo. Gli **studi "sul campo"** sono simili alle sperimentazioni randomizzate controllate, ma includono soggetti sani ad alto rischio, che sono selezionati da una popolazione e studiati "sul campo" invece che in strutture ospedaliere.

I trials randomizzati e le sperimentazioni "sul campo" sono stati applicati con successo alla valutazione di nuove terapie nel trattamento di malattie acute di origine ambientale. Per esempio, è stato intrapreso uno studio, durante un'epidemia di colera in Bangladesh nel 1983, per confrontare soluzioni orali di reidratazione a base di riso e zucchero nel trattamento della diarrea (Molla *et al.*, 1985). In modo simile, studi sulle vaccinazioni sono stati usati per valutare l'efficacia di nuove vaccinazioni nell'ambito della prevenzione di malattie contagiose.

Interventi di tipo ambientale sono spesso applicati a gruppi di soggetti o comunità. **Uno studio sperimentale di comunità**, nel quale più che gli individui, sono le comunità ad essere distribuite in modo casuale per il tipo di intervento, potrebbe quindi rivelarsi più appropriato. Studi sperimentali di comunità hanno incluso studi di comunità per paragonare diversi tipi di trattamenti delle acque di scolo e di clorazione delle acque nella prevenzione delle malattie diarroiche e l'aggiunzione di diverse concentrazioni di fluoro agli approvvigionamenti idrici per la prevenzione della carie dentaria. Uno studio su bambini residenti a New York in comunità servite da reti idriche nelle quali era stato aggiunto fluoruro di sodio è un classico esempio di questo tipo di approccio (Asp & Schlesinger, 1956). Lo studio rilevò un sostanziale decremento nell'incidenza di deperimento, caduta e otturazione dei denti tra i bambini della comunità trattata durante i dieci anni di fluorazione delle acque (vedi Tabella 6.3).

**Tabella 6.3 Decadimento permanente, perdita od otturazione dei denti (DPO) per 100 bambini, fascia di età 6-16 anni, risultanti da esami clinici e roentgenografici condotti dieci anni dopo l'inizio di fluorazione - New York, 1954-55**

Età	Numero di bambini		DPO dei denti per 100 bambini		
	Newburgh (trattato)*	Kingston (controllo)	Newburgh (trattato)*	Kingston (controllo)	Differenza% (N-K)/K*100
6-9	708	913	98.4	233.7	-57.9
10-12	521	640	328.1	698.6	-53
13-14	263	441	610.1	1170.3	-47.9
15-16	109	119	975.2	1648.7	-40.9

\*Dall'inizio di maggio del 1945 si aggiunse del fluoruro di sodio alla rete di approvvigionamento idrico di Newburgh  
Fonte: adattato da Asp & Schlesinger (1956) e Lilienfeld & Stolley (1994).



Il metodo dell'appaiamento può essere condotto anche negli studi caso-controllo, ma non è sufficiente ad eliminare il confondimento - semplicemente facilita il suo controllo in fase di analisi - ed è costoso. L'appaiamento, inoltre, può ridurre la precisione di uno studio caso-controllo se riguarda un fattore che è associato con l'esposizione ma che non rappresenta un fattore di rischio per la malattia (e perciò non è un confondente puro). Tuttavia, condurre l'appaiamento per un fattore di rischio importante generalmente fa aumentare la precisione e può avere qualche vantaggio di tipo pratico.

Negli studi caso-controllo l'appaiamento viene effettuato misurando i fattori di rischio nei casi, e selezionando quindi i controlli dalla popolazione base sulla quale insiste il fattore di rischio. L'appaiamento può consistere in un appaiamento caso per caso, chiamato **appaiamento individuale**; ogni soggetto di controllo è associato in modo univoco a un caso, sebbene possano esistere più controlli per caso. L'appaiamento può consistere anche in un appaiamento per frequenze. La distribuzione dei fattori di rischio rilevanti, ad esempio la proporzione di soggetti che appartengono al sesso maschile e la proporzione di soggetti che fumano, viene misurata tra i casi. Si selezionano quindi i controlli in base alle stesse frequenze per quei fattori considerati.

### **Campionamento della popolazione**

Se in molti testi viene enfatizzata la differenza esistente tra gli studi individuali e quelli ecologici riguardo al campionamento delle unità, spesso questa distinzione non appare così chiara negli studi di epidemiologia ambientale. L'esposizione spesso agisce su base comunitaria (ad esempio l'inquinamento atmosferico). Agli individui della stessa popolazione viene attribuito lo stesso valore di esposizione; ciò rappresenta un approccio di tipo ecologico per stabilire l'esposizione individuale. Nello stesso studio gli esiti sulla salute sono valutati a livello individuale. Questi tipi di studi sono generalmente considerati in analisi come studi di tipo individuale, ma presentano molte caratteristiche e limitazioni in comune con gli studi ecologici. Per esempio, le esposizioni non sono mai pressoché davvero omogenee all'interno di una comunità. In più, visto che a così tanti individui viene attribuita la stessa esposizione, l'analisi e l'interpretazione statistica può non essere corretta, dato che non si conosce la reale distribuzione dell'esposizione.

Sorgono anche difficoltà nel caso in cui, come spesso avviene negli studi di epidemiologia ambientale, i ricercatori selezionino i soggetti per uno studio di comunità sulla base dei nuclei familiari, piuttosto che degli individui. In questo caso l'unità campionaria è rappresentata dal nucleo familiare e non dall'individuo. Poiché i membri di uno stesso nucleo familiare possono essere più simili gli uni agli altri piuttosto che ad altri individui, l'analisi dovrebbe tener conto di ogni conseguente covariazione. Questa complicazione può essere evitata del tutto, includendo nello studio di comunità solo uno dei componenti di ciascuna famiglia.

I metodi di campionamento degli individui dalle popolazioni sono stati descritti in diversi libri di testo (ad esempio vedi Kelsey *et al.*, Kahn & Sempos, 1989) e riportati al Capitolo 3. Anche se un semplice campione casuale può sembrare il mezzo migliore per ottenere un campione rappresentativo, generalmente è più efficiente utilizzare campioni stratificati, sistematici, a cluster, o multi-strato. Il campionamento stratificato è più efficiente del campionamento semplice quando la distribuzione dei soggetti in relazione a variabili rilevanti come età o genere non è uniforme. In molte circostanze la precisione dello studio può essere migliorata utilizzando la stratificazione, quando la popolazione può essere suddivisa in sottogruppi, che sono più omogenei rispetto alle variabili di interesse che non la popolazione nel suo complesso (Kelsey *et al.*, 1996).

Uno dei vantaggi del campionamento sistematico (ad esempio campionare una persona sì ed una no) consiste nel fatto che il ricercatore non ha necessità di individuare l'intera fonte di reclutamento dei soggetti potenziali prima di intraprendere il campionamento. In più, in certe condizioni il campionamento sistematico è spesso più semplice da implementare rispetto al campionamento casuale. Per esempio, campionare i nati in un ospedale attraverso un campionamento sistematico ogni cinque nati risulta più semplice che applicare una procedura di selezione casuale per ciascun nato, con un quinto di probabilità di essere selezionato attribuita a quel soggetto. Lo svantaggio del campionamento sistematico tuttavia consiste nella difficoltà di identificare distribuzioni peculiari all'interno della fonte

di reclutamento, che potrebbero rendere non rappresentativo il campione così pianificato. E' chiaramente importante scegliere intervalli di campionamento che non siano correlati all'esposizione o all'esito sanitario. Quindi il campionamento di nascite in un ospedale non dovrebbe basarsi sul giorno della settimana, poiché il numero di parti indotti nel caso di complicanze potrebbe essere legato ad alcuni giorni della settimana e non ad altri. I campioni sistematici hanno anche limiti rappresentati dal fatto che possono essere poco efficaci nella stima della variabilità, a meno che non si assuma che un campionamento sistematico di una popolazione ordinata in modo casuale sia la stessa cosa di un semplice campione casuale. Molti studi fanno propria questa assunzione e considerano in analisi i campioni sistematici come se fossero semplici campioni casuali.

### **Dimensioni del campione e precisione**

Decidere quanti soggetti includere nel campione è un punto cruciale di ogni studio epidemiologico. Stabilite le variazioni attese per le variabili cruciali per l'analisi, il numero di soggetti dovrebbe essere ampio abbastanza da riuscire a stimare gli effetti ipotizzati con adeguata precisione. Come riportato nel Capitolo 7, l'analisi statistica in un caso controllo porterà generalmente a odds ratio come misura dell'effetto, con intervallo di confidenza al 95% come indicazione di precisione della stima dell'odds ratio. Sebbene questi valori non possano essere calcolati prima di aver raccolto i dati, è possibile stimare la precisione di uno studio facendo alcune ragionevoli assunzioni circa le distribuzioni statistiche delle variabili in analisi. Dal momento che la precisione di uno studio è influenzata moltissimo dal numero di soggetti, questi calcoli possono essere utili per stimare il numero necessario a raggiungere la precisione statistica voluta.

Diversi libri di testo riportano formule e tabelle per il calcolo del numero di soggetti necessari nei diversi tipi di studi epidemiologici ed analisi statistiche per poter raggiungere la precisione desiderata (vedi ad esempio Breslow & Day, 1980; Breslow & Day, 1987; Kahn & Sempos, 1989; Lwanga & Lemeshow, 1991; Selvin, 1991).

## **6.4 Strategie nella scelta del disegno dello studio**

Allo scopo di scegliere un disegno dello studio che sia appropriato, il ricercatore deve comprendere le limitazioni ed i punti di forza dei diversi disegni dello studio, trattati singolarmente nel paragrafo 6.2. Dopo aver valutato limitazioni e punti di forza delle opzioni offerte dal disegno dello studio, il ricercatore deve considerare altri fattori prima di poter scegliere: l'obiettivo dello studio, l'ordine di grandezza dell'esposizione, la natura e la frequenza di manifestazione della patologia e la disponibilità di registrazioni di dati sull'esposizione e sul manifestarsi dell'esito sulla salute.

Quando l'obiettivo è quello di esplorare relazioni causa-effetto, sconosciute ma probabili, con lo scopo di formulare delle ipotesi, si scelgono studi descrittivi. Sono studi utilizzati anche in indagini volte a quantificare impatti di fattori ambientali sulla salute, per relazioni causa-effetto note.

Gli studi analitici sono spesso condotti con la motivazione della preoccupazione per uno specifico fattore ambientale o per un'occorrenza di patologia. Il ricercatore può scegliere di utilizzare lo studio di coorte, se lo stimolo è dato dall'esposizione, uno studio di tipo caso-controllo se la motivazione è data dall'osservazione di una certa patologia, sebbene l'associazione tra un'esposizione e un'occorrenza di malattia possa essere analizzata utilizzando entrambi i tipi di studio. Se si intende analizzare l'associazione tra una specifica esposizione ambientale e l'occorrenza di malattie, è appropriato il disegno della coorte, mentre per lo studio di associazione tra una specifica malattia e esposizioni a diversi fattori ambientali è preferibile un disegno tipo caso-controllo.

Nel caso in cui si prediliga un disegno dello studio analitico, può essere comunque intrapresa un'analisi esplorativa utilizzando dati esistenti con la finalità di sviluppare ipotesi più puntuali. In verità, spesso sono necessari tutta una serie di studi per valutare e perfezionare ipotesi sul ruolo giocato dai fattori ambientali nella comparsa di una patologia. Generalmente i ricercatori conducono studi ecologici o trasversali prima di prendere in considerazione studi caso-controllo o studi di coorte. Un esempio è dato dalla serie di studi intrapresa a Barcellona per analizzare l'eziologia dell'asma (Antò *et al.*, Antò & Sunyer, 1990). Gli approcci utilizzati per analizzare altri episodi di avvelenamento

ambientale sono descritti nei lavori preparati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (vedi, ad esempio, WHO, 1991b; WHO, 1992c).

Nel caso si voglia valutare l'incidenza di un esito sanitario, l'utilizzo del disegno caso-controllo è più efficiente rispetto ad un disegno di coorte, perché permette di campionare dalla fonte in studio piuttosto che analizzarla interamente. Certamente, se si utilizza un approccio di tipo caso-controllo, può dimostrarsi più difficile identificare le fonti di bias, ma per molti studi di epidemiologia ambientale non è pertinente distinguere tra disegno caso-controllo e disegno di coorte per quanto riguarda le possibili distorsioni. Comunemente le esposizioni ambientali insistono su popolazioni dinamiche. Un caso-controllo quindi che campioni dall'esperienza di una popolazione dinamica potrebbe essere altrettanto realizzabile di un disegno a coorte, per il quale sia difficile individuare la corretta popolazione base, se non si dispone di una fonte di reclutamento.

I tassi di incidenza di tutte le patologie potenzialmente tendono ad essere bassi solo in qualche popolazione, e quindi un disegno caso-controllo è generalmente una scelta efficiente. Tuttavia tale metodo può risultare inefficace se è bassa anche la prevalenza dell'esposizione. Esistono quattro strategie principali che permettono di valutare gli effetti di esposizioni o esiti sanitari infrequenti, nessuno dei quali è completamente soddisfacente.

Una possibilità è quella di condurre lo studio su una popolazione base molto allargata. Questo è realizzabile, tuttavia, solo se sono disponibili basi di dati. Purtroppo, ne esistono poche che contengono informazioni adeguate sia sull'esposizione che sulla manifestazione di patologie in una popolazione appropriata. Più comunemente, l'utilizzo di dati esistenti richiede un'analisi di tipo ecologico.

Un'alternativa potrebbe essere quella di intraprendere uno studio caso-controllo utilizzando una popolazione in studio molto grande. Ma questo potrebbe rivelarsi utile se fosse poco costoso raccogliere dai soggetti in studio le informazioni sulle condizioni di esposizione (per esempio tramite questionario postale o telefonico). Inoltre, questo approccio è utilizzato meno frequentemente che in passato, vista l'aumentata consapevolezza dell'importanza di disporre di misure di esposizione valide, che generalmente richiedono campionamenti ambientali diretti o campionamenti biologici.

Una terza strategia porterebbe a limitare la popolazione in studio ad una popolazione ad alto profilo di rischio, che presenti cioè una proporzione elevata di individui esposti, o elevati livelli di esposizione, o una popolazione di soggetti altamente suscettibili. Questa metodologia viene seguita negli studi di popolazioni esposte dal punto di vista occupazionale, per valutare i potenziali effetti di sostanze che nell'ambiente generale si rilevano a concentrazioni inferiori. Questo approccio, tuttavia, può ridurre la dimensione numerica della popolazione disponibile allo studio e quindi limitare la validità generale dei risultati.

Un disegno dello studio di coorte può essere un mezzo efficiente per valutare esposizioni rare, ma lo è poco nell'accertare la comparsa di patologie. Conducendo uno studio di coorte storica, il tempo necessario e i costi possono diminuire, ma i dati registrati sono cruciali per l'identificazione della popolazione in studio e la misurazione dell'esposizione avvenuta. Gli studi di coorte storica, di conseguenza, raramente si rivelano fattibili nell'ambito degli studi di epidemiologia ambientale.

## 7 ANALISI ED INTERPRETAZIONE DI UNO STUDIO

### Obbiettivi didattici

- Comprendere le principali misure di effetto impiegate negli studi di epidemiologia ambientale.
- Comprendere come si applicano i metodi statistici di base per l'analisi dei dati.
- Saper proporre metodi semplici per il controllo del confondimento in fase di analisi dei dati.
- Saper riconoscere quando è necessario impiegare metodi statistici più avanzati.

### 7.1 Approccio all'analisi dei dati

Questo capitolo fornisce una panoramica delle analisi degli studi epidemiologici ambientali. L'analisi dei dati, così come altri aspetti dell'epidemiologia ambientale quali la valutazione dell'esposizione e la valutazione degli effetti sulla salute, dovrebbe essere condotta principalmente da professionisti con competenze specifiche (ad esempio i biostatistici), senza tralasciare però di coinvolgere tutti i componenti del gruppo di ricerca. Un epidemiologo, cioè, dovrebbe essere coinvolto nell'analisi dei dati, così come un biostatistico dovrebbe partecipare alla fase di disegno dello studio.

Come trattato nel Capitolo 6, l'approccio comunemente usato nella ricerca epidemiologica è quello di selezionare una popolazione da studiare e misurare l'occorrenza di una malattia in tale popolazione, in particolare in relazione allo stato di esposizione e ad altri possibili fattori rilevanti come l'età ed il genere. L'analisi dei dati permette di esprimere in modo quantitativo le misure di occorrenza della malattia e le misure di effetto (definite nel Capitolo 3) in relazione alle variabili di esposizione e di esito sanitario. L'analisi dei dati permette inoltre di stimare la precisione di queste misure, data la possibilità di errore casuale.

La stratificazione e l'utilizzo di modelli sono impiegati per identificare ed aggiustare i fattori di confondimento, fattori che possono introdurre distorsioni quando non siano tenuti in debito conto.

#### Stima dell'effetto

La fase di analisi dei dati negli studi analitici e negli studi sperimentali mira a stimare l'effetto di una particolare esposizione (o di un fattore demografico) confrontando l'occorrenza di una malattia tra esposti e non esposti. La **stima dell'effetto** implica di solito l'associazione dei dati per mezzo di modelli statistici. In questo modo è possibile accertare se il rischio di ammalarsi è differente nel gruppo degli esposti rispetto a quello dei non esposti. Possono anche essere stimate l'entità dell'effetto dell'esposizione e la precisione della stima di questo effetto. Le definizioni e le formule per calcolare le misure di effetto sono state trattate nel Capitolo 3.

In molti casi, per comprendere completamente il ruolo di una esposizione nell'insorgenza di una malattia, può essere necessario ricorrere al calcolo di misure più sofisticate rispetto ad una misura grezza di effetto quale può essere, ad esempio, il rapporto tra i tassi (*rate ratio*). Può anche essere utile comprendere se l'effetto dell'esposizione differisca nei diversi sottogruppi della popolazione in studio. Per esempio Katsouyanni *et al.* (1993) studiarono l'interazione tra l'inquinamento dell'aria e l'alta temperatura in relazione all'eccesso di mortalità che si verificò durante un'ondata di grande caldo in Grecia nel giugno del 1987. Essi trovarono che l'aumento del numero di morti era stato molto più elevato (97%) ad Atene (dove i livelli di inquinamento atmosferico erano relativamente elevati) rispetto ad altre aree urbane (33%) e non urbane (2%).

Altre analisi suggerirono che la soglia dell'effetto dei vari contaminanti aerei è molto più bassa nelle giornate di caldo estremo rispetto ai giorni meno caldi. Questa **modificazione di effetto** si evidenzia quando la stima dell'effetto di una esposizione è associata con il livello di un altro fattore nella popolazione base (vedi paragrafo 3.3).

La relazione **dose-risposta** è un importante criterio da considerare per poter stabilire se una associazione evidenziata possa essere di natura causale; è quindi generalmente di grande interesse valutare

se l'effetto stimato vari in modo sistematico in relazione all'aumento dell'esposizione o della dose. Il più comune approccio analitico implica il confronto di sottogruppi della popolazione in studio, caratterizzati da differenti livelli di esposizione, con un gruppo non esposto.

Nello studio degli effetti a lungo termine di esposizioni ambientali, il **pattern temporale** dell'esposizione in studio deve essere ben considerato (Pearce *et al.*, 1988). Questo non riguarda i metodi statistici qui presentati, ma influisce piuttosto sulle definizioni di esposizione utilizzate nei calcoli statistici. In particolare, si deve considerare in fase di analisi il fatto che una persona accumuli l'esposizione lungo un certo intervallo di tempo. Ogni persona dello studio, cioè, si muove attraverso categorie di esposizione cumulativa, dal momento che si trova ad accumulare l'esposizione nel tempo, così come attraverso differenti categorie di fattori di confondimento, ad esempio l'età (Pearce *et al.* 1992).

### **Confondimento e bias**

Scopo fondamentale dell'analisi dei dati è quello di identificare e controllare i fattori estranei all'associazione tra esposizione ed esito sulla salute, ma in grado di distorcerla. Il **confondimento** si può controllare stratificando i dati in sottogruppi in relazione ai livelli del/i fattore/i di confondimento (per esempio forti fumatori, fumatori, non-fumatori) e calcolando uno stimatore di effetto globale aggregando le informazioni ottenute dagli strati. Solitamente in una analisi stratificata non è possibile il controllo per più di due o tre fattori contemporaneamente, per problemi di bassa "numerosità" all'interno degli strati. I modelli di analisi multivariata sono preferibili proprio perché permettono il controllo simultaneo di un gran numero di fattori di confondimento. In generale, il controllo del confondimento richiede l'utilizzo attento di conoscenze *a priori*, insieme ad una valutazione della portata della variazione della stima dell'effetto dovuta al controllo del fattore confondente in fase di analisi.

La stratificazione può anche essere usata per il parziale controllo degli effetti dei bias di selezione e di informazione, se si possono identificare variabili surrogate che siano correlate con le fonti di bias. Anche quando non fosse praticabile un controllo di questo tipo in fase di analisi, è generalmente raccomandabile l'utilizzo di strategie, come l'analisi delle misure ripetute, per stimare quantitativamente la *validità* e la *affidabilità* delle osservazioni dello studio (vedi paragrafo 3.3).

## **7.2 Fondamenti di statistica**

Questo paragrafo tratta brevemente i fondamenti dell'analisi statistica. Si basa su materiale presentato nel testo WHO *Basic Epidemiology* (Beaglehole *et al.* 1993). Particolare attenzione è rivolta ai metodi per il trattamento di dati categoriali, poiché è questo il tipo di dati che più comunemente si incontra nell'ambito dell'epidemiologia ambientale.

### **Distribuzioni statistiche e misure di sintesi**

Per poter quantificare le variabili da considerare in analisi si impiegano delle scale di misurazione.

Le **scale nominali** classificano le osservazioni in categorie, come nel caso del genere o dell'etnia. Le **scale ordinali** assegnano dei ranghi alle categorie, come ad esempio sintomi lievi, moderati o severi. Le **scale ad intervalli** misurano le variabili continue per le quali la distanza tra due misurazioni è definita, ma non esiste un punto di origine o di zero assoluto (ad esempio il quoziente intellettuale). Al contrario, nelle **scale a rapporti**, la distanza tra due misurazioni è definita ed esiste un logico punto zero (ad esempio la concentrazione in atmosfera del CO<sub>2</sub>). L'esistenza del punto zero implica che può essere definito il rapporto tra due misure. Per esempio, 1 metro è 2 volte la lunghezza di 50 cm. Allo stesso modo, in uno studio epidemiologico può succedere di osservare che il tasso di incidenza di una malattia nella popolazione esposta sia il doppio di quello della popolazione non esposta. Questo rapporto è stato definito nel Capitolo 3 come rapporto tra i tassi (*rate ratio*) o, più generalmente, rischio relativo.

Le distribuzioni dei dati possono essere riassunte in varie forme, comprendenti tabelle di frequenza,

tabelle a doppia entrata, istogrammi, diagrammi a barre e diagrammi circolari o a torta. Solitamente risulta poi di grande aiuto disporre di una **misura di tendenza centrale** sintetica. La **media**, date le sue proprietà statistiche e la sua facile interpretazione per variabili simmetricamente distribuite, è la più comune misura di tendenza centrale per variabili continue. La media in una popolazione può essere stimata come somma di tutte le osservazioni, diviso il numero delle osservazioni (n):

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Una volta che i dati sono stati riassunti, si può assumere che abbiano una distribuzione particolare in modo da ottenere una misura riassuntiva della loro variabilità. La distribuzione più utile assunta per variabili continue è la distribuzione normale (chiamata anche distribuzione gaussiana). Questa distribuzione è simmetrica rispetto alla media e tende all'infinito da entrambe le code (comunemente descritta come curva a campana). La più comune misura di variabilità è la **deviazione standard (SD)**. La deviazione standard è particolarmente utile quando la distribuzione dei dati è approssimativamente normale. Se i dati non sono distribuiti in modo normale, possono essere spesso trasformati in una distribuzione che approssimi la normale attraverso appropriate trasformazioni (ad esempio una trasformazione logaritmica per una distribuzione di dati di tipo log-normale):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Generalmente non è possibile studiare l'intera popolazione alla quale si è interessati. E' necessario in alternativa selezionare un campione casuale e riportare le sue caratteristiche alla popolazione. Se si estraggono campioni ripetuti dalla stessa popolazione, la media varierà tra i campioni. Anche se i dati non sono normalmente distribuiti, le medie dei campioni saranno approssimativamente normalmente distribuite a condizione che i campioni siano sufficientemente grandi (quanto grandi dipenderà da quanto i dati siano non-normalmente distribuiti). La deviazione standard delle medie campionarie è detta **errore standard (SE)** della media. Se la distribuzione delle medie approssima la distribuzione normale, il 95% circa delle medie campionarie saranno comprese entro 1,96 errori standard della media generale della popolazione (vedere Beaglehole *et al.*, 1993). Molti studi richiedono un solo campione ma l'ES può essere stimato dividendo la DS del campione per la radice quadrata del numero di soggetti che compongono il campione:

$$SE = \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (\text{per una distribuzione normale})$$

Molti studi di epidemiologia ambientale richiedono dati di tipo categorico piuttosto che continui; in particolare gli esiti di malattia sono dicotomizzati nelle due possibilità di presenza o assenza di malattia. Questo implica il calcolo di una proporzione (p). Sebbene la comparsa di malattia sia una variabile di tipo categorico (per esempio è presente o non è presente in un individuo), la proporzione è una variabile continua in una scala a rapporti. Un'altra caratteristica della proporzione è che i suoi valori devono essere compresi tra 0 (nessun malato) e 1 (tutti malati), 0 e 1 inclusi. Ad esempio si può stimare la proporzione di soggetti nati con malformazioni congenite in una particolare area geografica, in un particolare intervallo temporale. Un altro esempio è la proporzione di persone esposte decedute in uno specifico intervallo di tempo. Nella **distribuzione binomiale**, la distribuzione campionaria si approssimerà ad una distribuzione normale con media (p) e DS  $\sqrt{p(1-p)}$  se il campione è sufficientemente grande. Si può così calcolare la proporzione di deceduti (cioè il punteggio medio per una popolazione in cui il decesso vale 1 e la sopravvivenza 0) e la DS di questa proporzione (cioè l'errore standard del punteggio medio):

$$s = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} = \frac{[b(n-b)]^{0.5}}{n^{1.5}} \quad (\text{per una distribuzione binomiale})$$

La **distribuzione di Poisson** è un altro modello statistico particolarmente importante nell'analisi dei dati epidemiologici (Ahlbom, 1993). La distribuzione di Poisson rappresenta la probabilità che un certo numero di eventi si verifichino in un intervallo temporale nel caso in cui il numero di intervalli temporali sia molto alto, ma la probabilità che un evento si verifichi all'interno di ciascun intervallo temporale sia molto bassa (Kleinbaum *et al.*; Ahlbom, 1993). La formula si applica impiegando la misura del tempo-persona effettivo utilizzata nello studio piuttosto che le persone come singole unità di osservazione. La distribuzione di Poisson è una distribuzione discreta dal momento che in ciascun intervallo di tempo è possibile che si verifichi solo un numero intero di eventi. La distribuzione ha limite inferiore 0 ma limite superiore pari a infinito. Una proprietà vantaggiosa di questa distribuzione è che la misura di tendenza centrale (tasso medio) e la misura di variabilità sono direttamente correlate; nello specifico, la media e la varianza (quadrato della deviazione standard) coincidono. Così, in una distribuzione di Poisson, se gli eventi "b" si verificano in un intervallo di tempo "Y", il tasso medio corrisponderebbe a b/Y, la deviazione standard sarebbe la radice quadrata di b/Y e si può calcolare la deviazione standard del tasso medio (errore standard):

$$s = \frac{b^{0.5}}{Y} \quad (\text{per la distribuzione di Poisson})$$

Questi tre modelli statistici di distribuzione costituiscono la base di molte delle metodologie di analisi di dati presentate in questo capitolo.

### Test e stima

Una volta selezionato il campione, esso può essere usato per stimare le caratteristiche della popolazione di riferimento. L'approccio più comune è di costruire un intervallo di confidenza attorno al valore stimato, quindi di costruire attorno alla media stimata uno spettro di valori che abbia una specifica probabilità di includere la vera media della popolazione.

Solitamente si usa un intervallo di confidenza al 90% o al 95%, ma questi valori sono arbitrari (vedere Beaglehole *et al.*, 1993). Per una distribuzione normale l'intervallo di confidenza al 95% per la vera media della popolazione è dato da:

$$\bar{x} \pm 1,96 \times SE(x)$$

dove  $\bar{X}$  è la media del campione e SE (x) l'errore standard, stimato dalla deviazione standard del campione diviso la radice quadrata della dimensione campionaria. Questo intervallo di confidenza deriva da due quantità ( $\bar{X}$  e SE(x)) che sono stimate dal campione stesso. Da differenti campioni si otterranno differenti risultati. Nel 95% dei casi, tuttavia, purché il campione sia sufficientemente grande, l'intervallo di confidenza stimato per quel campione conterrà la media vera della popolazione. La variabilità del singolo dato può essere stimata tramite l'**intervallo di tolleranza**, che si calcola con la stessa formula sopracitata sostituendo all'errore standard la deviazione standard.

Molti studi di epidemiologia ambientale mirano a misurare la differenza nell'incidenza di una malattia tra un gruppo di soggetti esposti ed un gruppo di non esposti ad un particolare fattore. Per esempio, dovendo stimare la proporzione di gravidanze a rischio di malformazioni congenite in un'area geografica in cui i livelli di nitrati nell'acqua siano elevati, il confronto andrebbe fatto con la corrispondente proporzione registrata in un'area dove i livelli di nitrati nell'acqua potabile siano bassi (o con la proporzione corrispondente tra tutti i nati del Paese). Si può utilizzare un test statistico (z) per calcolare il **valore di p**, che rappresenta la probabilità che una differenza dell'ordine di grandezza di quella osservata (ad esempio la differenza tra le proporzioni di malformazioni congenite osservate nelle due differenti popolazioni) sia dovuta al caso; si assumerà come **ipotesi nulla** l'ipotesi che non ci sia una reale differenza tra i livelli di nitrati e le malformazioni congenite e non intervengano fatto-

ri di confondimento non controllati o bias e si avrà:

$$z = d/SE(d)$$

dove  $d$  è la differenza osservata e  $SE(d)$  l'errore standard della differenza, il valore di  $p$  può essere calcolato per qualsiasi valore di  $z$  usando le tavole statistiche standard (Rosner, 1986).

In passato, il valore di  $p$  è stato spesso impiegato per definire il risultato di uno studio come “significativo” o non “significativo”, in base ad un arbitrario livello di significatività ( $p = 0,05$ , probabilità del risultato = 5%). Recentemente, tuttavia, sono stati riconosciuti dei problemi nell'utilizzo di questo approccio (Rothman & Greenland, 1998). Come prima considerazione, il valore di  $p$  associato ad una differenza nel risultato tra due gruppi dipende da due fattori: la dimensione della differenza e la dimensione dello studio. Una piccola differenza può essere statisticamente significativa se la dimensione dello studio è grande, mentre una grande differenza può non essere significativa se lo studio è piccolo. Il valore di  $p$  allora mette in relazione due fenomeni che andrebbero considerati separatamente: la dimensione della stima di effetto e la precisione di tale stima.

Esiste poi un secondo problema di fondamentale importanza nell'utilizzo dei test di significatività. Lo scopo di tali test è quello di giungere ad una decisione. In epidemiologia ambientale, tuttavia, le decisioni dovrebbero basarsi non sui risultati di un singolo studio, ma sulle informazioni derivate da tutti gli studi disponibili oltre che da considerazioni non di tipo statistico, quali la coerenza e la plausibilità dell'effetto alla luce della corrente conoscenza teorica ed empirica.

Il problema dei test di significatività può essere evitato, tuttavia, considerando come scopo principale di un singolo studio quello di misurare quantitativamente l'occorrenza di una malattia o l'effetto di una esposizione (**stima puntuale**) e non quello di decidere se un effetto sia presente o meno. La stima puntuale dovrebbe essere accompagnata dall'intervallo di confidenza che indica la precisione della stima fornendo uno spettro di valori entro cui è molto probabile si posizioni il vero valore (Gardener & Altman, 1986). La stima quindi riflette la dimensione dell'effetto, mentre l'intervallo di confidenza riflette la dimensione dello studio sul quale si basa la stima di effetto.

### **7.3 Analisi di base dei dati**

Le variabili di esito sanitario considerate sono rappresentate spesso da misure di tipo continuo (ad esempio pressione sanguigna, indici di funzionalità polmonare). La maggior parte delle variabili di esito sanitario di tipo continuo sono normalmente distribuite o possono essere approssimate ad una distribuzione normale in seguito ad appropriate trasformazioni. Si possono quindi applicare gli approcci statistici standard delle distribuzioni di tipo normale. Nella maggior parte degli studi di epidemiologia ambientale, tuttavia, gli esiti di salute considerati sono di tipo dicotomico; ad esempio una ricerca può classificare i soggetti in studio in base al fatto che manifestino o meno una particolare malattia (tumore del polmone, malattie respiratorie). In questo testo è dato particolare rilievo ai metodi che impiegano variabili dicotomiche, risultanti in tassi di incidenza di malattia e nelle misure di effetto definite nel Capitolo 3. La Tabella 7.1 raccoglie i diversi tipi di studio ed i corrispondenti metodi analitici.

#### **Analisi esplorativa dei dati ed analisi descrittiva**

L'iniziale analisi descrittiva dei dati utilizza distribuzioni di frequenza, misure di sintesi quali la media di una variabile continua o il tasso di incidenza per una malattia e metodi grafici quali gli istogrammi per esaminare le caratteristiche delle singole variabili. I metodi quantitativi possono essere impiegati per testare se la distribuzione dei dati si approssimi alla distribuzione normale o ad una logaritmica o ad altri modelli (ad esempio il test di Kolmogorov-Smirnoff). Si confrontano quindi le distribuzioni di più variabili per identificare le associazioni che necessitano di analisi stratificate o multivariate.



**Tabella 7.1 Disegno dello studio e corrispondenti metodi analitici per studi epidemiologici con variabili dicotomiche**

	<b>Studio di coorte (tassi)</b>	<b>Studio di coorte <sup>#</sup> (rischi)</b>	<b>Studio caso-controllo <sup>*</sup></b>
Numeratore	Persone (casi)	Persone (casi)	Persone (casi)
Denominatore	Anni-persona	Persone	Persone (controlli)
Misure di occorrenza	Tasso (tasso d'incidenza)	Rischio (proporzione d'incidenza o di incidenza cumulativa)	Odds
Misura di effetto	Rapporto tra tassi (rapporto tra densità d'incidenza)	Rapporto di rischio (rapporto tra incidenze cumulative)	Odds ratio
Analisi stratificata	Mantel-Haenszel (SMR, SRR)	Mantel-Haenszel (SRR)	Mantel-Haenszel
Analisi multivariata	Regressione di Poisson <sup>@</sup>	Regressione binomiale	Regressione logistica

Note:

SMR= rapporto di mortalità standardizzato

SRR= rapporto dei tassi standardizzato, rapporto di rischio standardizzato

<sup>#</sup> Stessi metodi impiegati negli studi di prevalenza che richiedono il confronto diretto di prevalenze

<sup>\*</sup> Stessi metodi impiegati negli studi di prevalenza che richiedono il confronto tra odds

<sup>@</sup> Il modello di analisi del rischio proporzionale di Cox darebbe gli stessi risultati, ma è molto complesso da utilizzare.

Il primo passo nell'analisi esplorativa è di esaminare la distribuzione di ogni variabile per poter stabilire se sia appropriato l'utilizzo dei modelli statistici esposti in precedenza. Poiché molte analisi epidemiologiche impiegano variabili di tipo categorico, è appropriato valutare quante variabili continue possono essere ridefinite in questa modalità, ad esempio dividendo l'età in classi di età, o dividendo una variabile di esposizione in categorie che rappresentino persone soggette ad esposizione alta, media, bassa o nulla. La decisione di come suddividere una variabile continua in categorie solitamente richiede sia considerazioni di rilevanza biologica, come ad esempio quale sia un livello di esposizione rilevante, sia considerazioni di precisione statistica, ad esempio stabilendo categorie definite in modo che ogni strato contenga un sufficiente numero di osservazioni per l'analisi statistica.

L'analisi preliminare dei dati può anche essere intrapresa per arrivare a creare variabili composte, biologicamente appropriate, a partire da singole variabili misurate durante lo studio. Per esempio, si può calcolare una variabile di esposizione che rappresenti la media dell'esposizione giornaliera ad ozono misurando il tempo trascorso in diversi luoghi, e quindi la concentrazione di ozono misurata in ciascuno di questi luoghi (tecnica descritta nel Capitolo 4). Allo stesso modo, è comune stimare l'assunzione giornaliera di certi contaminanti attraverso la dieta, misurando e considerando insieme l'assunzione di tutti gli alimenti noti per contenere la sostanza in studio. Come riportato nel Capitolo 5, le definizioni dei casi per i dati sanitari possono essere basate sulla combinazione di molte variabili distinte; per esempio, la diagnosi di asma si basa sulla diagnosi clinica del medico o sulla storia della difficoltà respiratoria, in aggiunta alla positività dei test di funzionalità polmonare per ostruzione reversibile delle vie respiratorie o per iperreattività delle stesse. Se l'interpretazione biologica è chiara, le variabili derivate si riveleranno utili nella fase successiva di analisi dei dati, con il risultato di prendere in considerazione poche variabili in luogo di analizzare un numero elevato di variabili distinte ed altamente correlate tra loro.

E' importante capire la relazione esistente tra le variabili potenzialmente rilevanti, e cioè tra variabili di esposizione, variabili di confondimento e modificatori di effetto comprendenti i fattori di rischio ed anche la suscettibilità individuale. Allo stesso modo le relazioni esistenti tra variabili accoppiate

(ad esempio due variabili misurate allo stesso tempo) possono essere visualizzate attraverso tecniche grafiche, come un grafico a dispersione per due variabili o usando tecniche analitiche come le tabelle a doppia entrata per variabili di tipo categorico. Lo scopo di tale analisi è quello di comprendere il tipo di relazione esistente tra le variabili considerate. Non sarebbe appropriato, in questa fase, riferirsi a test di significatività statistica per decidere quali variabili siano altamente correlate.

### Misure di occorrenza di malattia

Nel Capitolo 3 sono state definite le misure di base di occorrenza di malattia utilizzate negli studi epidemiologici. In questo paragrafo sono presentati alcuni metodi di analisi statistica (usando la stessa notazione del Capitolo 3 e mostrata nella Tabella 7.2, simile alla Tabella 3.1, ma con la notazione per ogni strato). Per le ragioni precedentemente sottolineate, è stata evidenziata la stima degli intervalli di confidenza, ma sono presentati anche metodi per il calcolo del valore di  $p$ . Saranno discussi solo i metodi di analisi che si basano su una teoria asintotica (cioè per grandi campioni). Per l'analisi di studi che coinvolgono numeri molto piccoli (per esempio se il numero di casi di malattia è minore di 5 in ogni gruppo da confrontare), sono richieste tecniche più complesse. Si rimandano i lettori a testi di riferimento per una più completa rassegna (vedere, per esempio, Rothman & Greenland, 1998).

**Tabella 7.2 Notazione dei dati negli strati utilizzati negli studi di incidenza e di prevalenza**

Variabile	Unità	Esposti	Non esposti	Totale
Casi	Persone	$a_i$	$b_i$	$M_{1i}$
Controlli	Persone	$c_i$	$d_i$	$M_{0i}$
Popolazione di riferimento	Persone	$N_{1i}$	$N_{0i}$	$T_{Ni}$
Anni-persona		$Y_{1i}$	$Y_{0i}$	$T_{yi}$
Tasso di incidenza		$I_{1i}$	$I_{0i}$	
Incidenza cumulativa		$CI_{1i}$	$CI_{0i}$	
Odds		$O_{1i}$	$O_{0i}$	

Come esposto nel Capitolo 3, la più comune misura di occorrenza di malattia in uno studio di coorte è il tasso di incidenza, che è una misura dell'occorrenza della malattia per unità di tempo. Il tasso di incidenza nel gruppo dei non esposti è espresso come  $I_0 = b/Y_0$  con un errore standard (per una distribuzione di Poisson) pari a:

$$SE(I_0) = \frac{b^{0.5}}{Y_0}$$

e un intervallo di confidenza al 95% del tasso di incidenza dato da:

$$I_0 \pm 1,96 \times SE(I_0)$$

L'incidenza proporzionale (incidenza cumulativa o rischio) è un'altra misura dei casi di malattia in uno studio di coorte e rappresenta la proporzione di soggetti in studio che sviluppano la malattia durante uno specifico intervallo temporale. L'incidenza proporzionale nel gruppo dei non-esposti ha questa formula  $CI_0 = b/N_0$  con un errore standard (per una distribuzione binomiale) di:

$$SE(CI_0) = \frac{[b(N_0 - b)]^{0.5}}{N_0^{1.5}}$$

Un intervallo di confidenza per l'incidenza cumulativa è dato da:

$$CI_0 \pm 1,96 \times SE(CI_0)$$

**Box 7.1 Esempio sui tassi di incidenza**

Continuando con l'esempio del Capitolo 3, uno studio su partecipanti neozelandesi ai test britannici sulle armi nucleari nel Pacifico (Pearce *et al.*, 1990) includeva, come gruppo dei non-esposti, 1.504 uomini in servizio nelle navi che non partecipavano ai test. Questo gruppo è stato seguito per il periodo 1957-1987. I 1.504 controlli contribuivano per un totale di 38.937 anni-persona, e si verificarono in questo gruppo 179 decessi. Così il tasso di mortalità fu 179/38.937 pari a 46 decessi per 10.000 anni-persona, con un errore standard pari a 0,00034 e un intervallo di confidenza al 95% compreso tra 39,2 e 52,7 decessi per anni-persona. L'incidenza cumulativa di mortalità fu 0,119 (11,9%) con un errore standard pari a 0,00834, e un intervallo di confidenza compreso tra 0,103 e 0,135.

Si veda la Tabella 7.3 per i dati relativi a questo esempio.

Come spiegato nel Capitolo 3, uno studio trasversale misura la prevalenza di una malattia o delle condizioni di salute di una popolazione. La misura di occorrenza della malattia in uno studio trasversale è la prevalenza ( $P_0 = b/N_0$ , con  $b$  che rappresenta il numero dei casi prevalenti in una popolazione non esposta). Le proprietà statistiche della prevalenza sono simili a quelle dell'incidenza cumulativa dato che entrambe si esprimono attraverso una proporzione della popolazione in studio. L'errore standard e l'intervallo di confidenza per la prevalenza sono calcolati impiegando le stesse formule mostrate precedentemente.

Mentre la maggior parte degli studi epidemiologici si basa su queste misure di occorrenza di malattia, alcuni analizzano le condizioni di salute considerandole misure di tipo continuo. Si utilizza questo approccio quando l'esito di salute è costituito da una misura biologica, come la pressione sanguigna o la concentrazione di un enzima o di una proteina nel sangue (la formula per calcolare un test statistico, l'errore standard e l'intervallo di confidenza per una distribuzione normale di variabili continue è stata illustrata nel paragrafo 7.2).

**Tabella 7.3 Follow-up dei partecipanti neozelandesi ai test inglesi sulle armi nucleari nel Pacifico, 1957-1987**

	Partecipanti ai test		Controlli	
Sopravvissuti	377	(71,4%)	1085	(72,1%)
Deceduti	70	(13,3%)	179	(11,9%)
Emigrati	31	(5,9%)	69	(4,6%)
Persi	50	(9,5%)	171	(11,4%)
Totale	528		1504	
Tempo-persona	13.923		38.937	
<b>Tasso di mortalità per 10.000 anni-persona</b> (densità d'incidenza, <i>n.d.t.</i> )	50,3		46	
SE (Tasso di mortalità)	0,00060		0,00034	
I.C. 95%	38,5 - 62,1		39,2 - 52,7	
<b>Rischio cumulativo di mortalità, 1957-1987</b> (incidenza cumulativa, <i>n.d.t.</i> )	0,133		0,119	
SE (Rischio di mortalità)	0,0148		0,0083	
I.C. 95%	0,104 - 0,162		0,103 - 0,135	
<b>Rapporto tra i tassi o Rischio relativo</b> ( rapporto tra i tassi di mortalità, <i>n.d.t.</i> )	1,09			
$\chi^2$ del Rapporto dei tassi	0,40			
I.C. 95%	0,83 - 1,44			
<b>Rapporto di rischio</b> (rapporto tra le incidenze cumulative, <i>n.d.t.</i> )	1,11			
$\chi^2$ del Rapporto di rischio	0,67			
I.C. 95%	0,86 - 1,44			

Fonte dei dati: Pearce *et al.*, 1990

### Misure di effetto

Le principali misure di effetto per l'analisi dei dati si basano su rapporti o differenze ottenute dalle misure di occorrenza descritte precedentemente per i diversi tipi di disegno dello studio (si veda la Tabella 7.1).

### Studi di coorte

La misura di primario interesse in uno studio di coorte è generalmente il **rapporto tra tassi (rate ratio)**, cioè il rapporto tra le incidenze (tra le densità di incidenza, *n.d.t.*) osservate nel gruppo degli esposti ( $a/Y_1$ ) ed in quello dei non-esposti ( $b/Y_0$ ) (si veda il Capitolo 3). L'ipotesi che il rischio relativo sia significativamente differente dal valore nullo, valore pari ad assenza di rischio (1,00), può essere testata con la versione tempo-persona del test  $\chi^2$  di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959). Essenzialmente esso verifica se il numero dei casi osservati tra gli esposti differisca da quello atteso, considerando l'ipotesi nulla che l'esposizione non abbia effetto:

$$\chi^2 = \frac{[Obs(a) - Exp(a)]^2}{Var(Exp(a))} = \frac{[a - Y_1 M_1 / T_y]^2}{[M_1 Y_1 Y_0 / T_y^2]}$$

dove  $M_1$ ,  $Y_1$ ,  $Y_0$  e  $T_y$  sono descritte nella Tabella 7.2. Il chi-quadro di Mantel-Haenszel è praticamente *identico* all'usuale test  $\chi^2$ , ma è preferibile poiché è più facilmente generalizzabile nel considerare diversi strati di fattori di confondimento (si veda di seguito). Un intervallo di confidenza al 95% circa per il rapporto tra tassi (Rate Ratio, *n.d.t.*) è dato da (Miettinen, 1976):

$$\text{RR} \quad 1 \pm 1,96 / \chi$$

La seconda misura di effetto impiegata negli studi di coorte statica è il **rapporto di rischio (risk ratio)**. Questo è il rapporto tra la proporzione di soggetti in studio che sviluppano la malattia nel gruppo degli esposti ( $a/N_1$ ) e la proporzione di soggetti che si ammalano nel gruppo dei non-esposti ( $b/N_0$ ), durante uno specifico intervallo di tempo. L'ipotesi che il rapporto di rischio sia significativamente differente dal valore nullo, valore pari ad assenza di rischio (1,00), può essere testata con il test  $\chi^2$  di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959):

$$\chi^2 = \frac{[Obs(a) - Exp(a)]^2}{Var(Exp(a))} = \frac{[a - N_1 M_1 / T_N]^2}{[M_1 M_0 N_1 N_0 / T_N^2 (T_N - 1)]}$$

dove  $M_1$ ,  $M_0$ ,  $N_1$ ,  $N_0$  e  $T_N$  sono descritte nella tabella 7.2. Un intervallo di confidenza al 95% circa per il rapporto di rischio è dato da:

$$\text{RR} \quad 1 \pm 1,96 / \chi$$

Una terza possibile misura di effetto è l'**odds ratio**, che è il rapporto tra l'odds di incidenza nel gruppo degli esposti ( $a/c$ ) su quello nel gruppo dei non esposti ( $b/d$ ), o come comunemente espresso  $OR = ad/bc$ . L'ipotesi che l'odds ratio sia significativamente diverso dal valore nullo, valore pari ad assenza di rischio (1,00), può essere testata con il test  $\chi^2$  di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959), che è lo stesso test presentato per il rapporto di rischio:

$$\chi^2 = \frac{[Obs(a) - Exp(a)]^2}{Var(Exp(a))} = \frac{[a - N_1 M_1 / T]^2}{[M_1 M_0 N_1 N_0 / T^2 (T - 1)]}$$

Un intervallo di confidenza al 95% circa per l'odds ratio può essere stimato attraverso la formula:

$$1 \pm 1,96 / \chi$$

**OR**

La ragione per cui si può applicare la stessa formula per il rapporto di rischio e per l'odds ratio è che entrambe le misure si basano su proporzioni che, quindi, possono essere analizzate usando la distribuzione binomiale, approccio descritto nel paragrafo 7.2.

Un analogo approccio può essere impiegato per calcolare misure di effetto basate su differenze piuttosto che su rapporti, in particolare la differenza fra i tassi e la differenza tra i rischi. La **differenza fra tassi (rate difference)** è descritta come  $RD = I_1 - I_0 = a/Y_1 - b/Y_0$ . L'ipotesi che la differenza fra tassi sia significativamente diversa dal valore nullo (0,0) può essere testata con la versione tempo-persona del  $\chi^2$  di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959), che è la stessa presentata in precedenza per il rapporto dei tassi. Un intervallo di confidenza al 95% circa per la differenza fra i tassi è dato da:

$$RD (1 \pm 1,96 / \chi)$$

La **differenza tra rischi (risk difference)** è descritta come  $RD = CI_1 - CI_0 = a/N_1 - b/N_0$ . L'ipotesi che la differenza di rischio sia significativamente diversa dal valore nullo (0,0) può essere testata con il  $\chi^2$  di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959), che è lo stesso test presentato per il rapporto di rischio. L'intervallo di confidenza al 95% per la differenza di rischio si calcola attraverso la stessa formula mostrata sopra per la differenza fra i tassi.

#### Studi caso-controllo

Negli studi caso-controllo, la misura del rischio relativo è il rapporto tra gli odds di esposizione (**exposure odds ratio**), che è il rapporto tra l'odds di esposizione nel gruppo dei casi (a/b) e l'odds di esposizione nel gruppo dei controlli (c/d). L'odds ratio è descritto come  $OR = ad/bc$ , che corrisponde matematicamente alla formula del rapporto tra gli odds di incidenza negli studi di coorte. Quindi, si possono utilizzare gli stessi metodi di analisi presentati prima per gli odds ratio di incidenza. L'ipotesi che l'odds ratio sia significativamente diverso dal valore nullo, valore pari ad assenza di rischio (1,00), può essere testato con il  $\chi^2$  di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959). L'intervallo di confidenza al 95% circa per l'odds ratio si può calcolare usando l'approccio del test di base come mostrato in precedenza.

La Tabella 7.4 mostra i risultati di uno studio caso-controllo di Sunyer *et al.* (1989) sulla reattività delle Ig-E sieriche ai semi di soia in un evento di asma epidemica. I casi erano costituiti da 86 pazienti che erano stati ricoverati al pronto soccorso per asma nel 1987 a Barcellona, durante un evento epidemico di asma; furono selezionati 86 controlli tra gli accessi al pronto soccorso per asma occorsi durante un periodo non epidemico. Il siero di 64 casi - ma solo 4 tra i controlli - risultò reattivo ad un preparato commerciale di antigeni della soia, producendo un odds ratio molto elevato di 59,6 (I.C. 95% 25,3-140,8). Lo studio mostrò quindi una forte associazione tra le immunoglobuline IgE sieriche e il preparato commerciale di antigeni della soia. Questo studio rafforzò così un altro lavoro dello stesso gruppo che aveva verificato che gli eventi epidemici accadevano solo nei giorni in cui la soia era scaricata presso il porto della città (Antò *et al.*, 1989).

**Tabella 7.4 Reattività serica ad un preparato commerciale di antigeni della soia ed epidemia di asma nella città di Barcellona**

Antigeni della soia	Casi	Controlli	Odds Ratio	I.C. 95%
Reattività	64	4	59,6	25,3 - 140,8
Non-reattività	22	82		

Fonte: Sunyer *et al.*, 1989.

### Studi di Prevalenza

Come osservato nel Capitolo 3, basandosi sugli studi di prevalenza si possono ricavare due differenti stime del Rischio Relativo. Il **rapporto delle prevalenze** è il rapporto tra la prevalenza negli esposti e quella nei non-esposti. Tali stime possono essere impiegate, per esempio, quando si studiano eventi epidemici, nel qual caso il rapporto delle prevalenze fornisce una stima del rapporto di rischio. I metodi statistici per stimare e testare il rapporto delle prevalenze sono identici a quelli usati nel calcolo del rapporto di rischio negli studi di coorte.

Il **rapporto degli odds di prevalenza** è una seconda misura di effetto che si ottiene dagli studi di prevalenza. Assumendo che la popolazione in studio rimanga in uno “stato stazionario” nel tempo e che l’esposizione e lo stato di malattia non siano correlati ai tassi di immigrazione ed emigrazione, allora gli odds di prevalenza corrispondono ai tassi di incidenza moltiplicati per la durata media della malattia ( $p(1-p) = I \bar{D}$ ). Quindi, se l’esposizione non incide sulla durata media della malattia, allora il rapporto degli odds di prevalenza ( $OR = I_1 D_1 / I_0 D_0$ ) è una stima diretta del rapporto dei tassi d’incidenza. In uno studio di prevalenza su malattie croniche, il rapporto degli odds di prevalenza è dunque una comune misura di effetto. I metodi statistici per stimare e testare il rapporto degli odds di prevalenza sono identici a quelli descritti per gli odds ratio in altri contesti (si veda sopra).

Nella Tabella 3.2 sono stati presentati i risultati di uno studio di prevalenza su disturbi respiratori ed esposizione ai gas di scarico delle automobili per 1517 persone (Nitta *et al.*, 1993). Di queste, 570 vivevano entro 20 metri dal ciglio stradale, con 56 (9,8%) individui che presentavano sintomi respiratori cronici. Gli altri 578 partecipanti vivevano a 20-150 metri dal ciglio stradale e 24 (4,2%) di questi presentavano sintomi respiratori cronici. Così, l’odds di riportare sintomatologia cronica tra quelli che vivevano vicino alla strada fu di 56/514, l’odds di quelli che vivevano più lontano fu di 24/554, e l’odds ratio di 2,5 (I.C. 95% 1,6-4,1).

### Relazione dose-risposta

Si può effettuare una analisi della relazione dose-risposta attraverso il confronto di sottogruppi della popolazione in studio che presentino differenti livelli di esposizione, usando i metodi di analisi descritti precedentemente. Se l’informazione sull’esposizione è espressa su una scala di tipo ordinale - per esempio, se i partecipanti allo studio possono essere classificati come soggetti ad alti, medi, bassi o nulli livelli di esposizione - il gruppo dei non esposti può essere utilizzato come gruppo di riferimento ed ognuno dei tre gruppi di esposti dovrà essere messo a confronto con questo.

La Tabella 7.5 mostra la prevalenza in uno studio caso-controllo condotto da Flatt *et al.* (1990) su 56 pazienti asmatici (casi) e 59 controlli non-asmatici, in Dunedin, Nuova Zelanda. In questa regione le concentrazioni ambientali di selenio sono basse, con il risultato di una bassa introduzione di selenio attraverso la dieta. Poiché il selenio ha proprietà antiossidanti, i ricercatori ipotizzarono che la sua carenza potesse giocare un ruolo nello sviluppo dell’asma in quella regione. I casi di asma furono identificati attraverso un esame generale dei pazienti ed una visita specifica del torace. I controlli furono selezionati tra i pazienti ambulatoriali di medicina generale, tra le liste di donatori di sangue e tra le famiglie che originavano i casi asmatici. Da ogni soggetto si prelevò un campione di 10 ml di sangue venoso per valutare l’attività della glutazione perossidasi nel sangue intero, come indicatore biologico di carenza di selenio (il selenio è un metallo essenziale presente in tracce e cruciale per la produzione di glutazione perossidasi). I risultati mostrarono un incremento del rischio di asma di 5,8 volte per i soggetti nei quali l’attività della glutazione perossidasi nel sangue intero ricadeva nel range più basso. I ricercatori conclusero che questi dati erano consistenti con l’ipotesi che una bassa concentrazione di selenio potesse avere un ruolo nella patogenesi dell’asma in Nuova Zelanda.

**Tabella 7.5. Risultati di uno studio caso-controllo di prevalenza dell'asma**

Attività del glutathione nel sangue intero (unità/g Hb)	Casi	Controlli	Odds ratio	I.C. 95%
$\geq 30$	7	13	1	-
25 - 29	14	19	1,4	0,4 - 4,5
20 - 24	15	20	1,6	0,5 - 5,2
< 20	20	7	5,8	1,6 - 21,2

Fonte: Flatt *et al.*, 1990

Se si dispone di un'informazione sull'esposizione di tipo continuo (come nell'esempio sopra), di solito si inizia dividendo l'esposizione in categorie (es. alta, media o bassa) e si conduce un'analisi preliminare, utilizzando i metodi illustrati sopra. Questo approccio è consigliabile, non solo per evitare di introdurre errori usando complessi modelli matematici, ma anche per ricercare una possibile forma per la curva dose-risposta. Ogni ulteriore analisi che richieda l'uso di dati di tipo continuo necessiterebbe dell'utilizzo di metodi di regressione. Questi saranno approfonditi nel paragrafo 7.5.

#### 7.4 Analisi stratificate

Stratificare per condurre una analisi dei dati significa suddividere le osservazioni in strati o classi secondo una o più variabili diverse da quelle di esposizione o di esito sanitario (Ahlbom, 1993). Per esempio, in uno studio sulla relazione tra esposizione ad inquinamento atmosferico e occorrenza di malattie respiratorie, i soggetti possono essere suddivisi in classi in base all'età o al sesso. Come descritto nel Capitolo 6, la stratificazione può essere condotta nella fase di selezione dei soggetti da includere in uno studio. I soggetti possono essere distribuiti nelle varie classi in proporzioni decise precedentemente. L'analisi stratificata è usata routinariamente, sia nel caso in cui lo studio sia stato pianificato a disegno stratificato, sia nel caso in cui i soggetti non siano stati stratificati nella fase di reclutamento nello studio.

L'analisi stratificata viene condotta per due differenti ragioni: per il controllo dei fattori di confondimento e per facilitare la valutazione della modificazione di effetto. Poiché il confondimento si riferisce ad un fattore di rischio che si distribuisce in modo differente nel gruppo degli esposti e dei non esposti, una possibile conseguenza del non controllo dei fattori di confondimento sarebbe rappresentata da distorsione (bias) nella misura dell'effetto, poiché il gruppo degli esposti e dei non esposti differirebbero nello sviluppo di malattia indipendentemente da qualsiasi effetto di esposizione studiato. Per esempio, in uno studio di coorte sull'effetto del fumo di sigaretta sulle malattie cardiovascolari, sarebbe appropriato stratificare per classi di età, poiché l'età è un fattore di rischio per le malattie cardiovascolari e la proporzione di persone che fuma può essere molto differente nelle diverse classi di età. Se le persone più anziane, che hanno un più alto rischio di malattie cardiovascolari, hanno tendenza a fumare meno dei più giovani, una analisi grezza o non stratificata dei dati condurrebbe a sottostimare il vero rischio relativo.

L'analisi stratificata è anche impiegata per valutare ogni modificazione di effetto, problema che si verifica quando l'effetto dell'esposizione dipende dal livello di un altro fattore presente nella popolazione fonte dei casi (Kleinbaum *et al.*, 1982; si veda il paragrafo 3.3). Conseguentemente, la misura dell'effetto può variare nei differenti strati. Si può utilizzare l'analisi stratificata per stimare le misure di effetto separatamente per i singoli strati. Si valuta poi la presenza di modificazione di effetto attraverso un confronto.

#### Analisi del confondimento

Il controllo dei fattori di confondimento richiede che i dati siano stratificati in sottogruppi, in accordo

con i livelli di tali fattori e che si calcoli un effetto globale che sintetizzi le informazioni dei diversi strati. Per esempio, controllare per l'età, usando cinque classi, e per il genere, impiegando due classi, richiede di raggruppare i dati in 10 (= 5 x 2) strati per i confondenti ed il calcolo di un rapporto dei tassi globale dato da una media pesata dei rapporti dei tassi strato-specifici. Si dispone di due diversi approcci per il calcolo di una misura riassuntiva di effetto: il **pooling** e la **standardizzazione**.

### Pooling

Il pooling è il più comune approccio all'analisi stratificata. Consiste nel calcolare una stima congiunta, assumendo che ci sia uniformità degli effetti dell'esposizione negli strati e che ogni variazione osservata nelle stime di effetto strato-specifiche sia dovuta ad un errore casuale. Si usano dei pesi per dare maggior enfasi alle classi con maggiore precisione. Il sistema dei pesi originariamente proposto da Mantel e Haenszel (1959) è il metodo più largamente usato per ottenere una stima globale di effetto. Questo sistema dei pesi per il pooling in analisi stratificate è relativamente semplice e vicino ad essere statisticamente ottimale (perfino se i numeri in ciascuno strato sono piccoli). Sono stati sviluppati metodi di Mantel e Haenszel per condurre analisi stratificate in ciascun tipo di disegno dello studio e di misura di effetto descritti in precedenza.

Il **rapporto tra tassi** globale di Mantel e Haenszel usa i pesi di:

$$W_i = \frac{b_i Y_{1i}}{T_{Yi}}$$

ed è dato da:

$$RR = \frac{\sum w_i RR_i}{\sum w_i} = \frac{\sum a_i Y_{0i} / T_{Yi}}{\sum b_i Y_{1i} / T_{Yi}}$$

L'ipotesi che il rapporto dei tassi globale differisca in modo significativo dal valore nullo (1,0) può essere testata con la versione tempo-persona del test del chi-quadro globale di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959):

$$\chi^2 = \frac{[\sum Obs(a) - \sum Exp(a)]^2}{\sum Var(Exp(a))} = \frac{[\sum a_i - \sum Y_{1i} M_{1i} / T_{Yi}]^2}{[\sum M_{1i} Y_{1i} Y_{0i} / T_{Yi}^2]}$$

dove  $M_{1i}$ ,  $Y_{1i}$ ,  $Y_{0i}$  e  $T_{Yi}$  sono stati descritti nella Tabella 7.2. Un intervallo di confidenza al 95% circa per il rapporto dei tassi globale è dato da:

$$RR^{1 \pm 1,96 / \chi}$$

Il **rapporto di rischio** globale di Mantel e Haenszel usa i seguenti pesi:

$$W_i = \frac{b_i N_{1i}}{T_{Ni}}$$



ed è calcolato attraverso la formula:

$$RR = \frac{\sum w_i RR_i}{\sum w_i} = \frac{\sum a_i N_{0i} / T_{Ni}}{\sum b_i N_{1i} / T_{Ni}}$$

L'ipotesi che il rapporto di rischio globale differisca in modo significativo dal valore nullo (1,0) può essere testata con il test chi-quadro globale di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959):

$$\chi^2 = \frac{[\sum Obs(a) - \sum Exp(a)]^2}{\sum Var(Exp(a))} = \frac{[\sum a_i - \sum N_{1i} M_{1i} / T_{Ni}]^2}{[\sum M_{1i} M_{0i} N_{1i} N_{0i} / T_{Ni}^2]}$$

dove  $M_{1i}$ ,  $M_{0i}$ ,  $N_{1i}$  e  $T_{Ni}$  sono stati descritti nella tabella 7.2. Un intervallo di confidenza al 95% circa per il rapporto di rischio globale è dato da:

$$RR^{1 \pm 1,96 / \chi}$$

L' odds ratio globale di Mantel e Haenszel usa i pesi di:

$$W_i = \frac{b_i N_{1i}}{T_i}$$

ed è dato da:

$$OR = \frac{\sum w_i OR_i}{\sum w_i} = \frac{\sum a_i d_i / T_i}{\sum b_i c_i / T_i}$$

L'ipotesi che l'odds ratio totale differisca in modo significativo dal valore nullo (1.0) può essere testata con il test chi-quadro globale di Mantel-Haenszel (Mantel & Haenszel, 1959):

$$\chi^2 = \frac{[\sum Obs(a) - \sum Exp(a)]^2}{\sum Var(Exp(a))} = \frac{[\sum a_i - \sum N_{1i} M_{1i} / T_i]^2}{[\sum M_{1i} M_{0i} N_{1i} N_{0i} / T_i^2]}$$

Un intervallo di confidenza al 95% circa per l'odds ratio globale è dato da:

$$OR^{1 \pm 1,96 / \chi}$$

### Box 7.2 Esempio di analisi stratificata in uno studio caso-controllo

Questo box presenta i dati di uno studio di epidemiologia occupazionale sul cancro della cavità nasale e dei seni paranasali e l'esposizione a formaldeide (Hayes et al., 1986), stratificati in base al fattore di confondimento quale l'esposizione alla polvere di legno.

#### Esposizione dei casi e dei controlli in uno studio sul cancro dei seni paranasali ed esposizione a formaldeide

Bassa esposizione alla polvere di legno			Alta esposizione alla polvere di legno		
Formaldeide	Casi	Controlli	Formaldeide	Casi	Controlli
Esposti	15	18	Esposti	16	16
Non esposti	48	143	Non esposti	12	18
Totale	63	161	Totale	28	34

L'odds ratio complessivo, aggiustato per l'esposizione alla polvere di legno, è:

$$OR = \frac{(15 \times 143 / 224) + (16 \times 18 / 62)}{(48 \times 18 / 224) + (12 \times 16 / 62)} = 2,05$$

e il  $\chi^2$  di Mantel-Haenszel è:

$$\chi^2_{MH} = \frac{[31 - 23,73]^2}{9,61} = 5,50$$

La radice quadrata di 5,50 è 2,35, ed i limiti dell' I.C. al 95% sono:

$$OR_L = 2,05^{1-1,96/2,35} = 1,13$$

$$OR_U = 2,05^{1+1,96/2,35} = 3,73$$

### Standardizzazione

Il confondimento può essere anche controllato conducendo un'analisi stratificata e calcolando un **tasso standardizzato** per ogni gruppo che deve essere messo a confronto. Questo approccio implica il calcolo di una media pesata dei tassi strato-specifici e quindi il calcolo del rapporto dei tassi standardizzati. Si noti che entrambi gli approcci, il pooling e la standardizzazione, calcolano una stima riassuntiva dell'effetto; tuttavia, gli approcci differiscono per due motivi. Prima di tutto, nel pooling, si calcolano i rapporti tra tassi in ogni strato e poi si ricava una media ponderata degli stessi, mentre nella standardizzazione si calcola la media pesata dei tassi nei differenti sotto-gruppi e successivamente si ricava il rapporto dei tassi pesati. In secondo luogo, calcolando un tasso standardizzato, non si fa nessuna assunzione circa la distribuzione uniforme o meno degli effetti negli strati. Le formule per i pesi perciò differiscono nei due approcci. La formula generale di un tasso standardizzato è:

$$SR = \frac{\sum W_i I_i}{\sum W_i}$$

dove  $I_i$  è l'incidenza nello strato  $I$ . Se  $SR_1$  è il tasso standardizzato nel gruppo degli esposti e  $SR_0$  è quello nel gruppo di confronto (Tabella 7.1), il **rapporto tra tassi standardizzati** (*Standardized Rate Ratio SRR*) è dato da:

$$SRR = \frac{SR_1}{SR_0}$$

I pesi possono essere scelti piuttosto arbitrariamente. Si utilizzano generalmente due opzioni principali nella scelta dei pesi, opzioni che conducono ad una chiara interpretazione delle misure di effetto standardizzate. Nella prima i pesi possono essere calcolati dalla distribuzione della variabile di confondimento nella popolazione di confronto (cioè  $w_i = Y_{0i}$  - che rappresenta la distribuzione tempopersona per strato della variabile di confondimento nella popolazione di confronto). In questo caso il

tasso standardizzato della popolazione di confronto ( $SR_0$ ) coincide con il tasso grezzo di questa popolazione. Usando questo approccio, che va sotto il nome di **standardizzazione diretta**, il rapporto standardizzato dei tassi è:

$$SRR = \frac{\sum Y_{0i}(a_i / Y_{1i})}{\sum b_i}$$

L'SRR è quindi il rapporto tra il numero di casi attesi nella popolazione di confronto (basato sui tassi calcolati nel gruppo degli esposti) ed il numero dei casi osservati nella stessa popolazione.

Un approccio alternativo è la **standardizzazione indiretta** nella quale i pesi sono calcolati dalla distribuzione dei confondenti nella popolazione degli esposti (cioè  $w_i = Y_{1i}$ ). Il tasso standardizzato della popolazione degli esposti ( $SR_1$ ) coincide con il tasso grezzo di questa popolazione ed il rapporto standardizzato dei tassi diventa:

$$SMR = \frac{\sum a_i}{\sum Y_{1i}(b_i / Y_{0i})}$$

Il rapporto di mortalità (o morbosità) standardizzato (*SMR, Standardized Mortality Ratio* o *Standardized Morbidity Ratio*) è quindi il rapporto tra il numero di casi osservati nella popolazione esposta ed il numero di casi attesi nella stessa popolazione, calcolati in base ai tassi del gruppo di riferimento.

L'SMR è principalmente impiegato negli studi di coorte nei quali il tasso di mortalità (o di incidenza) in una particolare popolazione, rappresentata ad esempio dalla forza lavoro di una fabbrica o una comunità, è confrontato con i tassi di mortalità nazionali. In altre parole, il numero di decessi osservati nella comunità è messo a confronto con il numero di decessi che ci si aspetterebbe in base ai tassi di mortalità nazionali. Se si usano i tassi di mortalità nazionali come confronto, l'SMR ha il vantaggio della stabilità statistica, perché i tassi applicati alla popolazione di confronto (nel calcolo degli attesi, *n.d.t.*) derivano dall'intera popolazione nazionale. Dovendo paragonare fra loro più di due gruppi, tuttavia, gli SMR non sono direttamente confrontabili, poiché si basano su pesi differenti. Al contrario, l'SRR ha il vantaggio di permettere il confronto tra gruppi poiché la distribuzione del confondimento nel gruppo di riferimento serve da peso in ogni caso. L'SRR, tuttavia, può fornire una stima instabile se i numeri dei casi osservati sono piccoli.

### Analisi di uno studio a dati appaiati

Negli studi di coorte raramente si applicano tecniche di appaiamento a causa dei costi richiesti per esaminare lo stato dei potenziali soggetti in relazione alle variabili di appaiamento (diverse da età, sesso o relazioni familiari) nella fase di reclutamento. Se si conduce l'appaiamento in uno studio di coorte, si possono utilizzare gli stessi approcci e le stesse formule descritte precedentemente nel caso di dati stratificati non appaiati. Un disegno dello studio a dati appaiati è usato più spesso negli studi caso-controllo che negli studi di coorte. E comunque si ricorre più frequentemente all'appaiamento delle frequenze che all'appaiamento individuale. I dati degli studi caso-controllo con appaiamento delle frequenze possono essere analizzati impiegando i metodi e le formule descritte precedentemente per i dati stratificati non appaiati. Per l'analisi di studi caso-controllo ad appaiamento individuale devono essere impiegate formule differenti, che tengano conto dello specifico disegno dello studio. Per disegni di studi a dati appaiati più complessi (come disegni di appaiamento multiplo e di appaiamento a rapporto variabile) si possono consultare testi specifici di riferimento (Kleinbaum *et al.*, 1982; Rothman & Greenland, 1998).

Lo schema di presentazione e la notazione utilizzata nell'analisi dei dati derivanti da uno studio caso-controllo ad appaiamento individuale sono illustrati in Tabella 7.6. Ogni cella della tabella rappresenta il numero di coppie di soggetti, caso e relativo controllo appaiato, interessati dalle stesse condizioni di esposizione. Per esempio, la cella "f" rappresenta il numero di coppie caso-controllo in cui sia il caso che il controllo sono esposti (+), mentre la cella "g" rappresenta il numero di coppie caso-controllo in cui il soggetto definito come caso è esposto (+) ed il soggetto definito controllo non lo è (-).

**Tabella 7.6 Notazione utilizzata nei dati in uno studio caso-controllo appaiato**

		Controlli	
		Esposizione	
		+	-
Casi	Esposizione	+	$f$
		-	$h$
			$g$
			$j$

L'odds ratio in uno studio a dati appaiati controlla il confondimento dovuto alla variabile di appaiamento.

L'odds ratio delle coppie appaiate (*matched pair odds ratio*  $OR_{MP}$ ) è calcolato attraverso la formula:

$$OR_{MP} = \frac{g}{h}$$

Si può notare che solo le coppie di soggetti che sono discordanti per l'esposizione contribuiscono al calcolo dell'odds ratio. Le coppie dove sia il caso che il controllo sono esposti o non esposti non forniscono informazioni utili al calcolo dell'odds ratio.

Il chi-quadro in uno studio a dati appaiati è:

$$\chi^2 = \frac{(g - h)^2}{g + h}$$

dove g e h sono i termini mostrati in Tabella 7.6. Un intervallo di confidenza al 95% circa per l'odds ratio delle coppie è dato da:

$$OR^{1 \pm 1,96 / \chi}$$

### Analisi della modificazione di effetto

E' d'interesse generale poter determinare se l'effetto dell'esposizione vari nei diversi sottogruppi della popolazione base dello studio. Per esempio, i ricercatori potrebbero voler analizzare se l'effetto dell'inquinamento atmosferico sui sintomi respiratori sia differenziato per genere, cioè se agisca diversamente negli uomini rispetto alle donne. Tale **modificazione di effetto** è valutabile anche attraverso la stratificazione dei dati e si distingue dal confondimento in quanto non rappresenta un bias (che dovrebbe essere rimosso o controllato), ma piuttosto una reale differenza nell'effetto dell'esposizione nei diversi sottogruppi. Si può valutare la modificazione di effetto calcolando le misure di effetto (per esempio il rapporto dei tassi) separatamente per ciascuno strato. Le misure di effetto strato-specifiche possono essere messe a confronto per valutare se l'effetto dell'esposizione vari tra gli strati. Se l'analisi degli strati ha fornito l'evidenza di una modificazione dell'effetto, non è appropriato calcolare una misura di effetto riassuntiva.

La Tabella 3.3 presentava i dati di uno studio di esposizione all'asbesto e al fumo di sigaretta e cancro al polmone (Hammond *et al.*, 1979), fornendo un esempio di modificazione di effetto. Se si calcola la differenza dei tassi all'esposizione all'asbesto risulta che 470 su 100.000 persone-anno sono a rischio tra i fumatori e 47 su 100.000 tra i non fumatori. E' evidente che il fumo agisce come modificatore di effetto dell'esposizione all'asbesto. Tuttavia utilizzando il rapporto tra i tassi, il rischio relativo per l'esposizione all'asbesto è circa cinque sia per i fumatori che per i non fumatori. L'esposizione all'asbesto, quindi, appare incrementare i tassi di mortalità per cancro al polmone di circa 5 volte, e questo effetto non è modificato dal fumo se si usa una misura di effetto di tipo moltiplicativo (ad esempio rapporto tra i tassi). Il fumo, tuttavia, sembra modificare l'effetto dell'esposizione all'asbesto se si utilizza una misura di effetto di tipo additivo (come la differenza dei tassi). In

altre parole, non c'è interazione tra il fumo di sigaretta e l'esposizione all'asbesto su scala moltiplicativa, ma esiste un'interazione su scala additiva (Pearce, 1989).

## 7.5 Analisi multivariata

Generalmente non è possibile controllare per più di due o tre fattori di confondimento in un'analisi stratificata. La stratificazione più fine porta ad avere strati nei quali può succedere di non veder comparire soggetti esposti o non esposti (o che non includono casi oppure controlli). Tali strati non sono informativi, pertanto una fine stratificazione può comportare una perdita di informazione. Il problema dei fattori multipli di confondimento può quindi essere affrontato attraverso l'uso dei metodi di analisi multivariata che permettono il controllo simultaneo di un gran numero di fattori di confondimento effettuando il liscio o *smoothing* dei dati lungo gli strati di confondimento. Questo paragrafo esamina alcuni dei metodi di analisi multivariata che possono essere impiegati negli studi di epidemiologia ambientale (si veda ad esempio Kleinbaum *et al.*, 1982; Kleinbaum *et al.*, 1988; Rothman & Greenland, 1998). Queste analisi possono essere condotte con pacchetti statistici standard come il GLIM (Baker & Nelder, 1978), BMDP (BMDP, 1979), SAS (SAS, 1988) ed l'Egret (SERC, Seattle, WA), ma è fondamentale un certo grado di familiarità con i metodi statistici e con i software. E preferibile quindi far condurre tali analisi da, o in collaborazione con, un biostatistico. Sono di seguito illustrati i concetti che sottendono ai metodi di analisi multivariata.

### La regressione lineare

La più comune forma di regressione è quella lineare, per cui la relazione matematica tra le variabili è rappresentata da una linea retta. Una delle variabili è considerata variabile dipendente e viene valutato il grado con cui i suoi valori variano in relazione ad una o più variabili indipendenti. La regressione lineare può essere usata se la misura in studio è di tipo continuo. Si possono utilizzare i metodi standard di regressione per dati normalmente distribuiti. Le principali tecniche statistiche sono illustrate chiaramente in molti testi di riferimento (si veda ad esempio, Kleinbaum *et al.*, 1988). La regressione lineare può anche essere appropriata per analisi di dati di studi ecologici, nei quali le misure dell'esposizione e di effetto sanitario sono confrontate tra più popolazioni (unità ecologiche), benché le tecniche di regressione possano essere più complicate a causa della necessità di pesare le osservazioni in base alla loro precisione (la precisione in genere è correlata alla dimensione delle unità ecologiche).

### I modelli log-lineari

In molti studi di epidemiologia ambientale l'esito sanitario considerato è di tipo dicotomico: i partecipanti allo studio sono classificati, ad esempio, in base al fatto di manifestare o meno l'evento sanitario in studio (per esempio tumore del polmone, malattie cardiovascolari). La variabile dicotomica è convertita in un tasso o in un rischio come descritto precedentemente.

L'approccio consueto per descrivere la relazione tra salute e fattori di rischio è di calcolare il logaritmo del tasso di malattia (o del rischio o dell'odds) come una combinazione lineare di un insieme di fattori di rischio, comprendenti la o le esposizioni di interesse ed i potenziali fattori di confondimento (Pearce *et al.*, 1988). Il modello ha come formula generale:

$$\ln(Y) = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_j X_j + e$$

Dove  $\ln(Y)$  è il logaritmo naturale dell'esito  $Y$ ,  $b_1$  il coefficiente del fattore di rischio, e  $X_i$  i diversi fattori di rischio. Si noti che se tutte le  $X_i$  fossero zero allora  $\ln(Y) = b_0$ . Così  $Y_0 = \exp(b_0)$  stima il rischio di malattia (o tasso o rischio) nel gruppo di persone con valore zero per ogni  $X_i$  (si omette il termine errore casuale "e" nelle successive equazioni).

Le stime dei coefficienti dei modelli si ottengono tramite il metodo della **massima verosimiglianza** (*maximum likelihood*). (I metodi di massima verosimiglianza possono anche essere usati in analisi di tipo stratificato, ma il computo è molto complesso). Questo metodo si basa sulla **funzione di verosi-**

**miglianza (*likelihood function*)** che rappresenta la probabilità di osservare i dati come funzione di parametri non noti ( $b_0, b_1, \dots, b_j$ ). Il metodo comporta la ricerca dei valori dei parametri non noti che massimizzano il valore della funzione di verosimiglianza.

L'esempio sottostante è relativo ad una semplice situazione nella quale l'esposizione è dicotomica ed è rappresentata da  $X_1$  ( $X_1 = 1$  se esposti,  $X_1 = 0$  se non esposti) ed il solo fattore di confondimento è l'età, che è stratificata in due classi e rappresentata da  $X_2$  (per esempio  $X_2 = 1$  se età  $\geq 55$ ,  $X_2 = 0$  se l'età  $< 55$ ). Se si considera un particolare gruppo di età, il modello per il sottogruppo degli esposti ( $X_1 = 1$ ) è:

$$\ln(Y_E) = b_0 + b_1 + b_2 X_2$$

ed il modello per il gruppo dei non esposti ( $X_1 = 0$ ) è:

$$\ln(Y_{\bar{E}}) = b_0 + b_2 X_2$$

Sottraendo la seconda equazione dalla prima si ottiene:

$$\ln(Y_E / Y_{\bar{E}}) = b_1$$

ed "esponenziando" entrambi i lati della formula si ottiene il rischio relativo per le persone esposte rispetto alle non esposte:

$$R = \exp(b_1)$$

Il coefficiente  $b_1$  associato con il termine che esprime l'esposizione ( $X_1$ ) può quindi essere usato per calcolare il rischio relativo per i soggetti esposti rispetto ai non esposti.

E' semplice modificare il modello log-lineare per ottenere livelli multipli di esposizione. E' sufficiente una sola variabile per denotare un fattore con due livelli, K-1 variabili per indicare un fattore con K livelli. Ad un soggetto in una categoria di riferimento si assegna il valore zero per ognuna delle K-1 variabili indicatrici. Il coefficiente di ciascuna delle categorie di esposizione, "esponenziato" stima il rischio relativo per le diverse categorie rispetto alla categoria di riferimento. Il modello log-lineare non distingue tra le esposizioni principali ed i confondenti; le esposizioni ed i confondenti sono tutti modellati come "fattori di rischio" ed il coefficiente per ogni fattore stima il suo effetto sulla variabile di esito sanitario, aggiustato per gli effetti di tutti gli altri fattori del modello. La costruzione di variabili indicatrici dei fattori di confondimento con livelli multipli è quindi simile a quanto si fa per la variabile d'esposizione principale. Per esempio, si potrebbero utilizzare quattro variabili indicatrici per denotare cinque classi di età.

E' preferibile usare la definizione in classi o categorie per le variabili di esposizione (Rothman & Greenland, 1998) poiché l'impiego di variabili di esposizione di tipo continuo può essere problematico. Un modello che usa variabili di esposizione di tipo continuo assume che l'esposizione sia collegata in modo esponenziale al rischio di malattia (Greenland, 1979). Così ogni unità aggiuntiva di esposizione *moltiplica* il rischio relativo per un valore costante. Per esempio, supponiamo che il coefficiente per un dato fattore sia 0,693. Esponenziando questo termine si ottiene un rischio relativo di 2.0 per una unità di esposizione, mentre un soggetto con due unità di esposizione ( $X_1 = 2$ ) ha un rischio relativo stimato di  $\exp(2 \times 0,693) = 4,0 (= 2,0^2)$ , rispetto ad un soggetto non esposto. In epidemiologia raramente si osserva una relazione di tipo esponenziale tra l'esposizione e l'effetto ed è quindi necessario ricorrere ad un modello migliore. Considerando l'esposizione come variabile di tipo categorico si ha il vantaggio di non sottintendere nessuna assunzione sulla forma della curva esposizione-effetto, riuscendo quindi ad evidenziare relazioni che non seguano un modello esponenziale.

Una obiezione che viene spesso sollevata nei confronti dell'approccio di tipo categorico è che si perde informazione sull'esposizione continua e si diminuisce la potenza statistica; si rende inoltre neces-

sario introdurre molti termini nel modello piuttosto che uno solo. In confronto ad un approccio di tipo continuo, si riduce effettivamente la potenza statistica se la relazione dose-risposta ha un andamento monotonicamente continuo per tutti i valori di esposizione. La potenza statistica è una considerazione di secondaria importanza negli studi epidemiologici, che hanno come principale obiettivo quello di ottenere valide stime della reale relazione esposizione-effetto. Questo si può ottenere in modo molto semplice utilizzando una analisi di tipo categorico.

Come per l'esposizione principale, è preferibile anche per i livelli dei confondenti usare un insieme di variabili di tipo categorico. L'utilizzo di variabili di confondimento di tipo continuo è appropriato quando sia noto che la relazione con la malattia può approssimarsi ad una relazione esponenziale. Per esempio, si approssima una relazione esponenziale tra l'età e alcune malattie o esiti di malattia, quali i tumori solidi. Prima di impiegare variabili continue, tuttavia, bisognerebbe condurre un'analisi di tipo categorico per verificare se i dati mostrino una relazione esponenziale (o comunque una relazione che abbia una crescita monotonica).

Nella stima dell'effetto dell'esposizione è sempre desiderabile condurre l'aggiustamento per tutti i potenziali fattori di confondimento. Nel caso in cui esista una forte correlazione tra alcuni fattori di rischio, tuttavia, il modello sarà instabile a causa della multicollinearità. Potrebbe essere allora necessario eliminare dal modello alcuni dei potenziali confondenti che siano altamente correlati (si veda più avanti).

### Applicazioni specifiche

La Tabella 7.1 riassume i metodi multivariati appropriati per l'analisi dei diversi tipi di studi epidemiologici. Queste analisi possono essere condotte utilizzando pacchetti statistici standard come EPICURE o STATA.

La *regressione di Poisson* è una estensione della semplice analisi dei tassi di incidenza che implica l'utilizzo al denominatore del tempo-persona ed è quindi il metodo di analisi più appropriato per gli studi di coorte (Tabella 7.1). Il modello di regressione di Poisson per un rapporto tra tassi (*rate ratio*) ha la formula generale:

$$\ln(\lambda) = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_jX_j$$

dove  $\lambda$  è il tasso di incidenza per persone con specifici valori di  $X_1, X_2, \dots, X_j$ . La regressione di Poisson quindi discende direttamente da metodi più semplici che richiedono il calcolo di dati relativi al tempo-persona, il calcolo dei tassi d'incidenza in ciascuno strato dei confondenti (ad esempio in ciascuna classe di età), ottenendo rapporti complessivi tra tassi (*overall rate ratios*) aggiustati per i confondenti (ad esempio attraverso il metodo di Mantel-Haenzel). Per l'analisi di regressione di Poisson, come per l'analisi stratificata dei rapporti tra tassi, è innanzitutto necessario calcolare gli anni-persona per ogni categoria di esposizione e di confondimento (Pearce and Checkway, 1987). In uno studio di coorte è anche possibile usare la *regressione binomiale* per stimare i rapporti di rischio (*risk ratios*) invece che i rapporti tra i tassi (*rate ratios*).

L'approccio corrispondente per l'analisi dei dati negli studi caso-controllo è il modello di *regressione logistica*, dove Y è l'odds di una persona di divenire caso ( $= P/(1-P)$ , e P la proporzione di persone che sono casi). La misura di effetto di interesse è l'odds ratio. L'equazione della regressione logistica ha la formula generale:

$$\ln(P/(1-P)) = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_jX_j$$

dove P è la proporzione di soggetti che sono casi nel gruppo di persone che hanno le caratteristiche  $X_1, X_2, \dots, X_j$ . La regressione logistica è allora una modalità di modellazione dei dati analoga alla procedura standard di Mantel-Haenzel (Mantel-Haenzel, 1959).

La Tabella 7.7 presenta i risultati di una analisi di regressione logistica di uno studio caso-controllo

sulle malformazioni congenite ed il consumo di acqua potabile da parte della madre. (Dorsch *et al.*, 1984). Tutte le variabili furono introdotte nel modello simultaneamente (insieme con un numero di altri potenziali fattori di confondimento). La tabella mostra l'effetto indipendente di ogni fattore, aggiustato per gli effetti di tutti gli altri potenziali fattori di rischio per i quali erano disponibili informazioni. La tabella indica che, in confronto alle donne che consumavano solo acqua piovana, le donne che bevevano acqua di pozzo o acqua del lago Blu erano a rischio più elevato di partorire un bambino malformato. Gli autori conclusero che questi risultati erano consistenti con l'ipotesi della teratogenicità indotta dai nitrati.

La **regressione logistica condizionata** è la procedura impiegata nell'analisi multivariata di dati appaiati. Essa si basa sulla verosimiglianza che i dati siano distribuiti in diversi strati, così come sono, dati i totali marginali in ogni strato di confondimento. Una volta che sia stato condotto l'appaiamento per un numero di fattori e siano state trovate le coppie vere (ad esempio i gemelli) allora è appropriato l'utilizzo di un'analisi completamente appaiata, usando la regressione logistica condizionata. Tuttavia, se si è condotto l'appaiamento solo in relazione a fattori generali come sesso ed età, l'analisi appaiata per individui e l'analisi stratificata forniranno risultati ugualmente validi, comunque, la seconda fornirà una più precisa stima dell'effetto. Quando le classi siano numerose, allora, è generalmente usata la più semplice procedura di stima incondizionata.

**Tabella 7.7 Risultati di un'analisi di regressione logistica del rischio di malformazioni in relazione al consumo materno di acqua nel Lower South East dell' Australia del Sud, 1951-1979**

Variabili	beta	SE	Odds ratio	I.C. 95%
Sesso del bambino				
Femmine			1,0	
Maschi	0,48	0,2	1,6	1,1-2,4
Stato civile madre				
Sposata			1,0	
Nubile	-0,12	0,54	0,9	0,3-2,6
Altro	0,15	0,68	1,2	0,3-4,4
Nazionalità della madre				
Australiana			1,0	
Inglese	0,16	0,43	1,2	0,5-2,7
Europea	-0,31	0,38	0,7	0,4-4,5
Altro	-1,16	0,93	0,3	0,1-1,9
Lavoro del padre				
Classe 1			1,0	
Classe 2	0,13	0,34	1,1	0,6-2,3
Classe 3	-0,23	0,40	0,8	0,4-1,7
Classe 4	0,13	0,41	1,1	0,5-2,6
Area di residenza della madre				
Mt. Gambier - città			1,0	
Mt. Gambier - campagna	1,23	0,46	3,4	1,4-8,5
Altra città	0,79	0,51	2,2	0,8-5,9
Altra campagna	0,59	0,48	1,8	0,7-4,7
Consumo materno di acqua				
Acqua piovana			1,0	
Blue Lake	1,59	0,45	4,9	2,1-11,7
Pozzi	1,46	0,59	4,3	1,4-13,8
Altro	0,38	0,55	1,5	0,5-4,3
Non conosciuto	1,53	0,47	4,6	1,8-11,6

Fonte: Dorsch *et al.*, 1984



### Discussione dei modelli

I metodi di analisi multivariata sono diventati sempre più popolari negli ultimi anni. Rappresentano tecniche statistiche potenti in grado di offrire molti vantaggi, se usate in modo appropriato ed in combinazione con metodi più semplici. Spesso tuttavia sono applicati in modo inappropriato, necessitando di forti assunzioni. E' sempre importante verificare questi presupposti, per cercare di formulare un modello alternativo e di verificare i risultati con quelli ottenuti da semplici analisi stratificate. Queste analisi più semplici dovrebbero essere condotte in precedenza. La strategia del modello dovrebbe essere specificata in anticipo, così che solo i modelli interessanti a priori siano presi in considerazione, in modo da evitare analisi esplorative senza ipotesi a priori, il cosiddetto "dragaggio dei dati", per cui i ricercatori applicano ("fanno girare", utilizzando una terminologia di settore) centinaia di modelli e poi scelgono i risultati che più li soddisfano.

E' necessario porre l'accento sul fatto che statistici e epidemiologi probabilmente utilizzano i modelli multivariati in modo differente. Nei modelli statistici convenzionali, l'attenzione è posta sulla predittività. Lo scopo è ottenere un modello che si adatti bene ai dati utilizzando il numero minimo di variabili. Nel decidere se includere o meno particolari variabili in un modello, i principali fattori da considerare saranno relativi alla significatività statistica ed alla bontà dell'adattamento ai dati. Sono stati sviluppati metodi standard di regressione *stepwise* che si dimostrano, anche se non sempre, efficaci nell'ottenere questi risultati.

Gli epidemiologi, d'altro canto, impiegano i modelli per stimare l'effetto e comprendere i meccanismi eziologici. In molti studi epidemiologici è necessario investigare un fattore di esposizione principale e più potenziali fattori di confondimento. La principale variabile di esposizione dovrebbe essere inclusa in tutti i modelli, senza riguardo alla significatività statistica. La decisione se aggiungere o meno al modello potenziali fattori di confondimento dipenderà da come cambia la stima dell'effetto dovuta all'esposizione principale (e non dal fatto che il termine relativo al fattore di confondimento sia statisticamente significativo). I potenziali confondenti dovrebbero essere sempre attentamente controllati, anche se possono originarsi problemi se questi confondenti sono strettamente correlati con l'esposizione, dando luogo alla multicollinearità, che rende il modello instabile. Le principali problematiche sono allora nel controllo del confondimento, evitando nello stesso tempo di introdurre multicollinearità nel modello.

La **multicollinearità** si verifica quando in un modello una variabile è quasi una combinazione lineare delle altre variabili. In particolare, se c'è una forte correlazione tra il/i fattore/i di confondimento e l'esposizione principale, la stima dell'effetto dell'esposizione sarà instabile con un ampio errore standard. Se ignorando un fattore di confondimento il principale effetto rimane virtualmente invariato, ma ciò riduce grandemente l'errore standard, questo suggerirà che il modello "ridotto" fornisce stime più precise dell'effetto principale senza compromettere la validità. E' meno semplice, tuttavia decidere come procedere quando un forte fattore di confondimento risulta essere fonte di multicollinearità, dal momento che al guadagno in precisione, dovuto al non considerare tale confondente è contrapposto l'aumento del bias, dovuto a inadeguato controllo del confondimento (Robins & Greenland, 1986).

**Punti influenti o valori influenti dei dati** sono valori dei dati che pesano più del dovuto nel determinare i valori dei coefficienti di regressione. Questo problema può essere in gran parte evitato usando solo variabili di tipo categorico. Approccio particolarmente vantaggioso se si opera una fine categorizzazione per isolare i dati estremi in categorie separate, dalle quali saranno automaticamente scartati se non sono disponibili dati di comparazione (Rothman & Greenland, 1998). I valori influenti dei dati costituiscono un problema più grande nelle analisi che si basano su variabili di tipo continuo. Si può eseguire una procedura di valutazione, che consiste nel non considerare in analisi, a turno, ciascun valore, con la finalità di accertare se l'inclusione o meno di quel valore influisca in modo considerevole sulla stima dell'effetto peculiare.

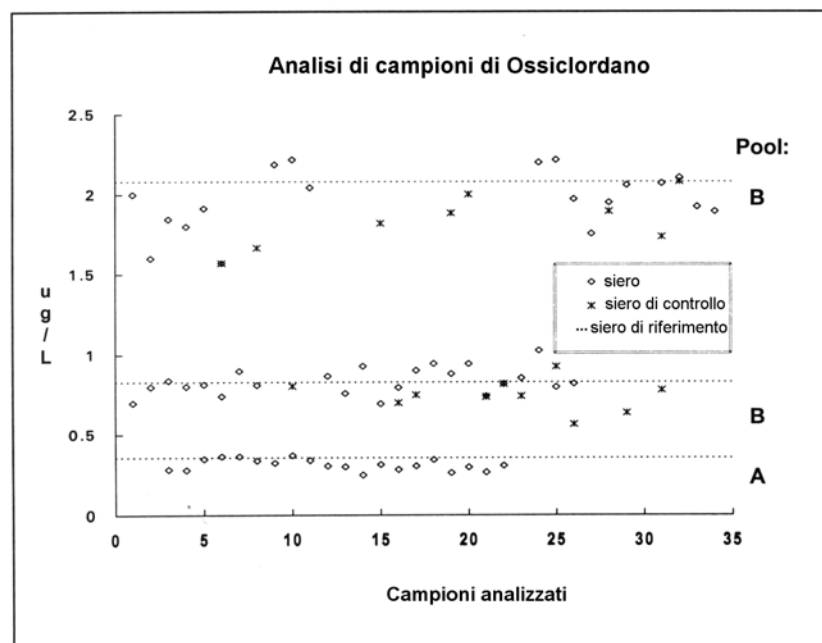
Molti test per la **bontà dell'adattamento ai dati** (*goodness of fit*) richiedono il raggruppamento dei

dati ed il confronto del numero dei casi osservati in ogni gruppo con quelli attesi, in base ai valori predittivi del modello (solitamente con il test del  $\chi^2$ ). Sebbene il valore dei test per la bontà dell'adattamento sia rilevante in un contesto statistico, dove il valore predittivo è spesso l'obiettivo primario, questo non è vero in un contesto epidemiologico. Per esempio, un modello debolmente adattato può comunque produrre valide stime di effetto. La mancanza di adattamento indica l'esistenza di un forte fattore di rischio, o un'interazione tra i fattori di rischio inclusi nel modello, non adeguatamente controllati. Ma questo non dice nulla sul fatto che il fattore non controllato sia associato con l'esposizione e quindi sia un fattore di confondimento (Checkoway *et al.*, 1989).

## 7.6 Trattamento ed analisi della misclassificazione

La strategia più efficace per ridurre il bias dovuto all'errore di misurazione consiste, abbastanza semplicemente, nel porre una meticolosa attenzione a questo problema nella fase di disegno dello studio e di raccolta dei dati. Questo significa che dovrebbero essere stabiliti criteri chiari e procedure per la raccolta dei dati e che il personale addetto allo studio dovrebbe essere addestrato e monitorato durante tutto lo studio. Dovrebbero anche essere definite all'inizio dello studio procedure per l'assicurazione ed il controllo della qualità per permettere il monitoraggio della raccolta dei dati, dell'analisi di laboratorio, della gestione dei dati. Inoltre, durante lo studio può essere analizzata la qualità dei dati per garantire che la loro raccolta e le tecniche per le analisi di laboratorio siano accurate. Per esempio, per effettuare il controllo di qualità in uno studio di popolazione sulla concentrazione nel siero umano di pesticidi organoclorurati, i ricercatori inclusero in ogni gruppo di campioni analizzati un campione a concentrazione nota di pesticidi (costituita dalla miscela dei sieri). Impiegando i campioni di riferimento, venne monitorata la validità delle analisi di laboratorio per verificare che i risultati fossero concordanti tra i gruppi e nel tempo (Baker *et al.*, 1991; Wolff *et al.*, 1991).

Fig. 7.1 Esempio di controllo di qualità dell'analisi di laboratorio per la ricerca nel siero dei pesticidi



Fonte: Wolff *et al.*, 1991

Durante l'analisi di uno studio i ricercatori generalmente attuano verifiche di garanzia e di controllo della qualità dei dati per valutare se sia intervenuta qualche forma di bias nella raccolta dei dati e per stimare l'affidabilità degli stessi. Questa valutazione viene utilizzata nella fase di interpretazione dei risultati dello studio, in particolar modo nel considerare la possibilità di un bias da misclassificazione.

### L'effetto dell'utilizzo di variabili di esposizione imprecise

Può essere abbastanza complicato calcolare gli effetti quantitativi che gli errori di misurazione portano nei risultati di uno studio, in quanto essi possono essere di tipo differenziale o non differenziale e possono interessare la misurazione sia delle variabili di esposizione che di effetto (così come dei confondenti e dei modificatori di effetto). Per semplificare la discussione, sono presentati gli effetti degli errori di misura sui risultati di studi in cui la misura degli effetti sanitari sia accurata ed intervengano errori di tipo non differenziale in relazione soltanto alle misure di esposizione.

Come detto nel Capitolo 3, riguardo all'errore di misura di tipo non differenziale, la misura osservata dell'effetto è soggetta ad un bias verso il valore "nullo". La grandezza del bias è una funzione del vero effetto misurato e della precisione della misura della esposizione. Il coefficiente di validità  $\rho_{TX}$  è una misura della precisione e rappresenta la correlazione tra la vera misura, T, e la misura osservata, X. Allora  $\rho_{TX}^2$  è la proporzione della varianza di X spiegata da T. Per una misura di esito continua e di una di esposizione continua, il coefficiente di regressione osservato è:

$$\beta_0 = \rho_{TX}^2 \beta_T$$

L'effetto dell'errore in una misura di esposizione continua nell'odds ratio è:

$$OR_0 = OR_T \rho_{TX}^2$$

Per esempio, supponiamo che si conduca uno studio sull'associazione tra l'esposizione per tutta la vita al pesticida p,p'-DDT e l'incidenza del tumore alla mammella. Se l'esposizione al pesticida fosse in grado di raddoppiare il rischio di cancro al seno, allora  $OR_T$  sarebbe uguale a 2,0. Se la correlazione tra l'esposizione stimata al pesticida e la vera esposizione fosse 0,6, allora l'odds ratio osservato sarebbe  $2,0^{0,36} = 1,28$ . Questo esempio mostra che l'errore non-differenziale nella misurazione può risultare in un bias sostanziale dell'effetto stimato.

La validità delle misure di tipo dicotomico di esposizione è comunemente espressa in termini di sensibilità e specificità. La **sensibilità dell'esposizione** rappresenta la proporzione dei soggetti realmente esposti che sono stati correttamente classificati come esposti, secondo la variabile di esposizione impiegata nello studio. La **specificità dell'esposizione** rappresenta la proporzione dei soggetti che sono stati correttamente classificati come non esposti. Le proporzioni osservabili (p) degli esposti nei gruppi dei malati e dei sani sono messe in relazione con le vere proporzioni (P) degli esposti e possono essere espresse come segue (Amstrong *et al.*, 1992):

$$p = \text{sensibilità} * P + (1 - \text{specificità}) * (1 - P)$$

Se il grado di misclassificazione dell'esposizione è uguale nei soggetti malati e nei soggetti di controllo (cioè quando la misclassificazione è di tipo **non-differenziale** così che la sensibilità e la specificità nel gruppo dei casi sono uguali a quelle del gruppo di controllo), l'odds ratio osservabile è, per definizione, uguale a:

$$OR_0 = [p_D * (1 - p_N)] / [p_N * (1 - p_D)]$$

La Tabella 7.8 presenta risultati numerici per diversi odds ratio e per diversi valori di sensibilità e specificità così da illustrare la dimensione del bias che può essere introdotto attraverso l'errore di misura.

**Tabella 7.8 Bias negli odds ratio osservati in funzione della sensibilità e specificità del metodo di misurazione dell'esposizione\***

Sensibilità dell'esposizione	Specificità dell'esposizione	Valore vero dell'odds ratio	
		2,00	4,00
		Odds ratio osservato	
0,60	0,80	1,29	1,71
0,80	0,80	1,42	2,13
0,95	0,80	1,52	2,51
0,60	0,95	1,60	2,53
0,80	0,95	1,71	2,96
0,95	0,95	1,80	3,35
0,60	0,99	1,77	2,99
0,80	0,99	1,86	3,37
0,95	0,99	1,94	3,74
0,99	0,99	1,96	3,85

\*Questo esempio assume che lo 0,2 (20%) del gruppo di controllo sia esposto.

#### **Aggiustamento per variabili di esposizione imprecise**

Alcuni epidemiologi raccomandano di impiegare procedure di aggiustamento per stimare quantitativamente il valore del bias nei risultati dello studio. Queste procedure generalmente usano misure di correlazione derivate da studi di validazione per correggere per le misure di effetto osservate. Se le procedure di correzione possono contribuire alla comprensione dei risultati di uno studio, tuttavia, una volta che si sono adottate bisogna fare attenzione nell'interpretazione dei risultati (Armstrong *et al.*, 1992). Per prima cosa le ipotesi alla base delle formule di correzione possono non essere appropriate. In particolare, un'ipotesi fatta a priori sull'errore non-differenziale della misura di esposizione può non essere corretta. Le stime dell'errore di misurazione, inoltre, dovrebbero basarsi sulla stessa popolazione in studio, mentre queste stime di errore in genere non sono disponibili e quindi si utilizzano stime derivate da altre popolazioni. Infine, in molti casi, non si dispone di misure accurate per poter giudicare la validità. Studi di affidabilità forniscono allora informazioni utili alle procedure di correzione, nel senso che tali studi forniscono informazioni circa la validità delle variabili misurate. Questo conduce ad una stima conservativa del vero rischio relativo in caso di errori nelle misurazioni di tipo non-differenziale.

Le formule per la correzione degli errori di misurazione possono essere molto complesse se si tenta di aggiustare per l'errore di tipo differenziale e non differenziale sia nelle misure di esposizione che di effetto sulla salute. Queste formule vanno oltre le finalità di questo testo, e in realtà sono raramente usate a causa della loro complessità. Si presentano dunque i metodi usati nell'aggiustamento dell'errore di tipo non-differenziale nella misura dell'esposizione, assumendo che l'esito di malattia sia stato misurato accuratamente. Queste formule sono essenzialmente le stesse di quelle presentate prima, ma sono risistemate per produrre la "vera" misura di effetto come funzione della misura dell'effetto osservato e della stima del coefficiente di validità derivato dallo studio di validazione.

Una stima della misura dell'effetto reale può essere calcolata basandosi sulla misura di effetto osservata, se è nota la correlazione tra l'esposizione osservata e la "vera" esposizione ( $\rho_{TX}$ ) (Armstrong *et al.*, 1992). Il coefficiente di validità di correlazione ( $\rho_{TX}$ ) è derivato ( $r_{TX}$ ) da uno studio di validazione nel quale la misura impiegata per lo studio è confrontata con un'accurata (e generalmente più dispendiosa) tecnica di misurazione applicata in un campione della popolazione in studio. Se non è nota l'accuratezza della tecnica di misurazione (ad esempio la validità), si può utilizzare una misura della correlazione tra due tecniche alternative di misura (ad esempio l'affidabilità,  $r_{x1x2}$ ) per stimare i limiti per una procedura di correzione.

**Esposizione di tipo continuo, esito sanitario di tipo continuo**  
(errore di tipo non-differenziale):

$$\beta_T = \beta_0 / r_{TX}^2$$

**Esposizione di tipo continuo, esito sanitario di tipo dicotomico**  
(errore di tipo non-differenziale):

$$OR_T = OR_0^{1/r_{TX}^2}$$

dove

$r_T$  = vero coefficiente di regressione;

$\beta_0$  = coefficiente di regressione osservato;

$r_{TX}$  = correlazione tra l'esposizione misurata e la vera esposizione.

Se si utilizzano due misure parallele con errori non correlati per condurre uno studio di affidabilità (assumendo che la seconda misura,  $X_2$  sia almeno affidabile quanto la prima  $X_1$ ), allora il coefficiente di affidabilità  $\rho_{X_1X_2}$  può essere impiegato per stimare il limite superiore ed il limite inferiore per il coefficiente di validità di  $X_1$ :

$$\rho_{X_1X_2} < \rho_{TX_1} < \sqrt{\rho_{X_1X_2}}$$

Per esempio, in uno studio caso-controllo sull'effetto dell'esposizione al radon sul tumore del polmone, l'odds ratio osservato è stato di 2,0 per esposizione di tutta la vita al radon. Una parte dello studio fu condotto impiegando due diverse misure di esposizione al radon e fu trovata una correlazione di 0,8 tra le due misure. Così il coefficiente di validità sarebbe stato tra 0,8, se la seconda misura avesse avuto lo stesso errore di misurazione della prima e  $\sqrt{0,8}$  o 0,894 se le misurazioni fossero state perfettamente valide. Conseguentemente, i limiti del vero odds ratio sarebbero stati 2,38 e 2,95.

**Esposizione di tipo dicotomico, esito sanitario di tipo dicotomico**  
(errore di tipo differenziale o non-differenziale)

$$OR_T = \frac{P_D(1 - P_N)}{P_N(1 - P_D)}$$

dove,

$$P_D = (p_D - 1 + spec_D) / (sens_D + spec_D - 1)$$

e

$$P_N = (p_N - 1 + spec_N) / (sens_N + spec_N - 1)$$

Così, può essere stimato il vero odds ratio se sono note la sensibilità e la specificità della classificazione dell'esposizione per entrambi i gruppi dei casi e dei controlli.

La riproducibilità delle variabili di esposizione di tipo categorico può anche essere stimata attraverso misurazioni ripetute con il calcolo del kappa di Cohen, una misura di concordanza che tiene conto anche dell'accordo dovuto all'effetto del puro caso o *chance corrected*. Per variabili di esposizione di tipo dicotomico, è stato dimostrato che l'odds ratio osservato in un studio è correlato con il vero odds ratio (Armstrong *et al.*, 1992) attraverso la formula:

$$OR_T = \frac{(OR_0 - 1)}{K} + 1$$

Per esempio, quando il valore dell'odds ratio osservato è di 2,5, e il valore del kappa di Cohen per la variabile di esposizione è 0,75, si può stimare un "vero" odds ratio di 3,0.

## 8 ASPETTI PRATICI NELL'EFFETTUAZIONE DI UNO STUDIO

### ***Obbiettivi didattici***

- Saper descrivere l'organizzazione e la conduzione di uno studio.
- Saper preparare un protocollo di studio.
- Saper descrivere i passi necessari per la realizzazione e la conduzione etica di uno studio.
- Comprendere la necessità della presenza di competenze interdisciplinari nel gruppo di lavoro.
- Riconoscere i problemi tipici che si possono incontrare quando si intraprende uno studio in particolari circostanze, come avere a che fare con comunità fortemente preoccupate o disporre di risorse limitatissime, e acquisire la capacità di individuare possibili soluzioni.
- Apprezzare vantaggi e vincoli di studi multicentrici.

### ***8.1 Tappe nell'effettuazione di uno studio***

Prima di intraprendere uno studio di epidemiologia ambientale, chi conduce l'indagine deve avere a disposizione un quadro chiaro della natura del problema da affrontare e dei motivi che rendono necessaria la ricerca di una risposta. Il ricercatore deve quindi raccogliere informazioni sull'argomento in questione, con una revisione della letteratura scientifica disponibile e dei documenti, discutendo il problema con rappresentanti della comunità e delle Pubbliche Amministrazioni. La rassegna bibliografica non deve essere limitata a pubblicazioni di ricerche epidemiologiche. Spesso si trovano informazioni utili per uno studio epidemiologico anche in ricerche in campo ambientale, tossicologico o clinico. Analogamente, molti utili studi condotti da agenzie governative possono essere molto più simili allo studio in progetto delle ricerche pubblicate. Questi studi spesso sono presentati solo in pubblicazioni ufficiali.

Dopo aver rivisto i dati esistenti e lo stato dell'arte su esposizioni ed effetti sanitari, il ricercatore deve formulare delle ipotesi da esplorare con lo studio. Questa tappa preliminare si conclude con la scelta del tipo di studio in grado di rispondere con maggior efficienza e fattibilità alle ipotesi.

Scelto il tipo di studio, la prima tappa è costituita dallo sviluppo di un protocollo con la descrizione degli obiettivi dello studio e dei metodi che si impiegheranno. Il protocollo identifica il personale e le risorse necessarie alla conduzione dello studio e serve come guida alla realizzazione pratica. Il protocollo di studio, con poche modifiche, può servire anche per motivare l'utilizzo dei fondi stanziati oppure per la richiesta di ulteriori finanziamenti.

Vale la pena, prima di iniziare lo studio, verificare se possono essere soddisfatte tutte le esigenze necessarie alla conduzione dello stesso. Per esempio, l'indisponibilità o l'incompletezza dei dati di mortalità o di ricovero ospedaliero per una data malattia per il periodo in studio rende impossibile lo studio proposto. Lo stesso accade se c'è la possibilità che vengano negate l'approvazione delle autorità preposte o la cooperazione delle comunità, oppure se mancano strutture per gli esami di base.

Deve essere effettuata una fase preparatoria durante la quale le metodiche di studio vengono scelte definitivamente. Ciò comprende la preparazione del personale, la verifica preliminare degli strumenti di studio e la programmazione degli aspetti organizzativi della ricerca sul campo. Uno studio pilota può consentire una migliore comprensione dei problemi che potrebbero presentarsi durante la fase di realizzazione dello studio vero e proprio. Lo studio pilota può comprendere la raccolta di dati su un piccolo numero di soggetti, al fine di valutare la fattibilità di accedere alla popolazione e raccogliere le informazioni desiderate. Le Agenzie che sostengono la ricerca, talvolta, chiedono l'effettuazione di uno studio pilota, prima di finanziare quello completo.

La fase principale dello studio è costituita dalla raccolta dei dati di esposizione e di salute, seguita

dall'analisi laboratoristica dei campioni biologici o ambientali, dalla gestione dei dati e dall'analisi statistica. Uno studio non può essere considerato completo finché un resoconto dei risultati non è presentato alle persone coinvolte, alla comunità interessata, ai finanziatori dello studio e, se i risultati sono importanti, alla comunità scientifica. La Tabella 8.1 mostra le tappe di effettuazione di uno studio.

**Tabella 8.1 Tappe nella effettuazione di uno studio**

- 
1. Ricerca preliminare di base
    - Natura del problema
    - Studi precedenti importanti
    - Approcci di studio e metodi di raccolta dei dati
  2. Sviluppo del disegno dello studio e dei metodi
    - Obiettivi ed ipotesi
    - Protocollo di studio
    - Dichiarazione sull'uso etico dei soggetti umani
    - Valutazione di fattibilità
  3. Formazione del gruppo di lavoro
  4. Preparazione dello studio
    - Contatti con la comunità e le amministrazioni pubbliche
    - Programmazione degli aspetti logistici e accordi per gli studi sul campo
    - Materiali e strumenti per lo studio
    - Preparazione del personale
    - Studio pilota, se necessario
  5. Effettuazione dello studio
  6. Completamento della gestione e dell'analisi dei dati
  7. Relazioni sui risultati dello studio
    - Ai soggetti coinvolti nello studio
    - Alla comunità e ai finanziatori
    - Alla comunità scientifica
- 

## **8.2 Protocollo dello studio**

Per ogni studio epidemiologico è necessario un protocollo i cui dettagli dipenderanno dall'esatta natura dello studio. Per esempio, il protocollo per una semplice analisi descrittiva di dati esistenti da parte del personale di una agenzia governativa può richiedere solo qualche pagina di motivazioni e spiegazioni. Invece il protocollo di una costosa ricerca multicentrica pluriennale può richiedere centinaia di pagine, con descrizioni dettagliate di tutti gli aspetti metodologici e organizzativi. Il protocollo deve fornire, qualunque sia la sua lunghezza, sufficienti informazioni per costituire la documentazione completa per lo studio, evitando verbosità ed eccessiva complessità. Tuttavia, molte agenzie governative e fondazioni hanno stabilito linee guida, che devono essere rispettate, che limitano l'estensione di un protocollo per richiesta di finanziamenti.

### Box 8.1 Scopi di un protocollo dello studio

- aiutare i ricercatori a concentrarsi sugli aspetti critici oggetto dello studio;
- delineare obiettivi, ipotesi, tipo di studio, popolazione in studio, metodi di misura, aspetti etici e legali, metodi per analizzare i dati e per anticipare risultati;
- aiutare i ricercatori a ricordare i dettagli del programma dello studio durante la sua effettuazione;
- aiutare a mantenere una continuità, nel caso in cui un ricercatore chiave abbandonasse lo studio;
- documentare le procedure del progetto per referenze future;
- fornire materiale utile per revisioni dello studio, esterne o tra pari;
- rappresentare una fonte di informazioni sullo studio.

Fonte: adattato da Miettinen (1985) e Hernberg (1992)

Il protocollo di studio deve comprendere una descrizione dettagliata di tutte le attività da eseguire durante la fase preparatoria e durante lo studio principale. La Tabella 8.2 mostra gli elementi raccomandati per un protocollo di studio.

### Tabella 8.2 Elementi di un protocollo dello studio

- Riassunto (non più di qualche centinaio di parole)
- Obiettivi e ipotesi dello studio
- Definizione del problema, conoscenze disponibili e importanza
- Ricerche precedenti e qualifica dei ricercatori
- Tipo di studio e metodi
  - descrizione della base di studio e indicazione del disegno dello studio
  - caratteristiche e dimensioni della/e popolazione/i da studiare
  - metodi per la selezione del campione, inclusi criteri di inclusione/esclusione
  - fonti dei dati e dati da raccogliere
  - metodi di misura dell'esposizione e degli effetti compresa l'indicazione delle misure da eseguire e degli strumenti da usare
  - lista delle attività previste e indicazione dei componenti del gruppo di lavoro
  - programma di arruolamento e addestramento degli operatori sul campo
  - programma di controllo qualità per monitorare il personale, gli strumenti e le procedure
  - metodi e strategie di analisi, compresi i programmi per l'immissione dei dati in computer e per la loro gestione, il controllo dei fattori di confondimento, la valutazione degli errori sistematici e la stima della potenza statistica o precisione
  - programma di archiviazione dati e procedure per revisioni future
- Cronogramma dello studio, compreso il calendario di ciascuna fase
- Risorse necessarie, compresi locali, attrezzature, materiali, servizi amministrativi
- Considerazioni etiche, soprattutto nel caso di procedure che sottopongono a studio persone
- Lista con le referenze di tutte le citazioni
- Appendici con le lettere di presentazione ai colleghi e alle agenzie

### Elaborazione degli obiettivi e delle ipotesi

Il protocollo deve iniziare con una chiara indicazione degli obiettivi, che saranno diversi a seconda della natura dello studio. Per esempio, l'obiettivo di uno studio descrittivo può essere la misura della distribuzione dei livelli di piombemia nei bambini di una città densamente popolata. Invece l'obiettivo di uno studio analitico sugli effetti del piombo nei bambini potrebbe consistere nella mi-



sura dell'associazione esistente tra la residenza nel raggio di 0,5 km da una fonderia di piombo e l'aumento della piombemia nei bambini di età compresa tra 1 e 5 anni. Gli obiettivi o compiti specifici di questo studio potrebbero essere la realizzazione di un'indagine presso le famiglie e la estrazione casuale di un campione di 100 bambini stratificato per età nell'area oggetto dello studio, al fine di somministrare un questionario, eseguire una visita medica e prelevare un campione di sangue per la misura della piombemia. Ove possibile, i ricercatori devono esprimere gli obiettivi dello studio in modo preciso e quantitativo. Nello stesso modo, i risultati previsti devono essere espressi come ipotesi chiare e quantitative. Per esempio, nel caso appena illustrato dello studio della piombemia, si potrebbe ipotizzare che la piombemia media nei bambini residenti entro un raggio di 0,5 km dalla fonderia di piombo sia pari al doppio o più rispetto a quella di bambini di uguale età residenti più lontano. Per inciso, gli studi epidemiologici non devono essere orientati verso l'accettazione o il rifiuto di precise ipotesi attraverso l'uso di test di significatività statistica. Malgrado ciò, l'individuazione di precise ipotesi è utile per pianificare lo studio e per interpretare i risultati.

### **Informazioni esistenti e importanza del problema**

Un protocollo deve fornire al lettore informazioni sufficienti per comprendere gli obiettivi ed i metodi presentati. La sezione sulle informazioni esistenti deve descrivere il problema da esaminare, rivedere i precedenti studi sul tema e descrivere ogni precedente importante lavoro condotto dai ricercatori. Inoltre, tale sezione deve spiegare gli scopi dello studio che si presenta. Lo studio può mirare a rispondere a specifiche questioni sull'esposizione ambientale o sugli effetti sulla salute in una ben precisa comunità. In questo caso, il protocollo deve indicare come saranno usati i possibili risultati per prendere decisioni sulla gestione del problema. Nel caso invece che lo studio abbia soprattutto intenti scientifici più ampi, il protocollo deve spiegare l'importanza dei possibili risultati. Va chiarito in che misura lo studio ha attinenza oppure è diverso dalle ricerche precedenti pubblicate. Il protocollo deve includere un riassunto di una approfondita rassegna della letteratura e di una valutazione degli studi attinenti, sia completati che in corso.

La sezione sulle informazioni esistenti deve fornire anche indicazioni sulle eventuali esposizioni ambientali e malattie associate e orientamenti sulla natura della base di studio, sui possibili fattori confondenti e sui modificatori di effetto. Devono essere passate in rassegna le possibili opzioni sulle misure di esposizione e di malattia. Sarà quindi chiarito, a questo punto, perché i metodi di studio scelti sono adatti al problema e alle ipotesi da affrontare.

### **Descrizione del disegno dello studio e dei metodi**

La sezione dei metodi di un protocollo di studio deve descrivere le variabili da valutare, fornire una panoramica del disegno dello studio, dei metodi e delle procedure per la selezione della popolazione, delle misure di esposizione e delle variabili che descrivono gli eventi di interesse (compresi riferimenti agli strumenti e al controllo di qualità) e della preparazione e gestione dei dati. È consigliabile anche l'aggiunta di una descrizione della strategia analitica e dei metodi statistici da seguire.

È necessario descrivere dettagliatamente il tipo e la dimensione del campione - compreso un riferimento allo schema di campionamento ed ai questionari e strumenti da usare - e i metodi per l'analisi laboratoristica dei campioni. È necessario indicare anche le procedure di controllo di qualità delle attività dello studio e dei dati. Al fine di consentire una programmazione attendibile, deve essere calcolato il tempo necessario per raccogliere ciascun insieme di dati.

L'esatta natura dei dati potrebbe essere sconosciuta, prima che sia stata avviata la gestione, esplorazione e sintesi dei dati (Miettinen, 1985), ma è importante, tuttavia, che il protocollo presenti una strategia globale di analisi, comprendente anche l'individuazione delle variabili chiave e della relazione causale prospettata da esaminare. Un'utile procedura consiste nel valutare come saranno presentati i dati, includendo magari la struttura delle tavole previste.

### **Box 8.2 Motivi per prendere in considerazione l'analisi dei dati in fase di disegno**

- Una esatta trattazione del piano di analisi dei dati indicherà se gli obiettivi più importanti sono stati chiaramente individuati.
- Il piano di analisi dei dati può identificare le variabili essenziali - determinanti, confondenti o modificatori di effetto - non affrontate adeguatamente nel piano di raccolta dei dati. Al contrario, possono individuarsi dati la cui raccolta richiede fatica, senza portare alcun contributo al conseguimento degli obiettivi dello studio, nei termini progettati.
- I componenti del gruppo di ricerca ai quali è affidata l'analisi dei dati sono incoraggiati a partecipare alla programmazione e a valutare criticamente, da un punto di vista statistico, tutto lo studio.
- La discussione del piano di analisi dei dati e della natura delle variabili da valutare è essenziale per capire se la dimensione dello studio progettato è adeguata.

*Fonte: adottato da Miettinen; 1985*

È necessario descrivere la struttura e il modo con cui i risultati dello studio saranno riportati ai singoli partecipanti e con cui saranno pubblicati, nonché le autorizzazioni che devono essere chieste per poter rendere di dominio pubblico i dati. La presenza di problemi di salute rilevati in qualcuno dei partecipanti deve venire riferita al medico curante, per gli ulteriori atti clinici necessari. Gli accordi riguardanti questi piani operativi devono esser descritti nel protocollo.

### **Cronogramma dello studio**

Un cronogramma dettagliato deve essere tracciato dopo che le attività sono state descritte. Il cronogramma può offrire molti vantaggi:

- aiutare il coordinatore del gruppo di ricerca a organizzare e assegnare i compiti nello studio;
- fornire un calendario e insieme una lista di controllo che consenta al coordinatore del gruppo di ricerca di capire a colpo d'occhio se le diverse attività procedono secondo i piani;
- consentire al coordinatore del gruppo di ricerca di individuare la sequenza ottimale delle azioni (cioè la sequenza che garantirà la massima efficienza a tutte le mansioni) e dunque la durata totale dello studio;
- aiutare il coordinatore del gruppo di ricerca a comprendere il sopraggiungere di ostacoli al proseguimento del lavoro, come orari da modificare o mansioni da ridistribuire.

L'esecuzione di uno studio può essere divisa in quattro parti: fase preparatoria che comprende lo studio pilota, fase principale dello studio, gestione dei dati e analisi statistica, ed infine preparazione del rapporto. Un cronogramma è utile per ciascuna di queste fasi essenziali. Abitualmente un cronogramma è rappresentato da un tabella che elenca per ogni attività importante dello studio i tempi di inizio esatti e la durata prevista; altre volte è utilizzata una figura che riporta le medesime attività su una linea temporale. Va riservata una particolare attenzione al tempo richiesto da alcune attività:

- ordini di apparecchiature e materiali d'uso
- messa a punto e verifica degli strumenti
- assunzione e formazione del personale necessario per lo studio
- gestione e controllo di qualità dei dati, preliminarmente all'avvio delle analisi statistiche
- preparazione dei rapporti e delle pubblicazioni scientifiche

Si tratta di attività che richiedono molto tempo, sebbene spesso i ricercatori non riservino loro sufficiente spazio in corso di programmazione di uno studio. Nel caso di indagini che comprendano un esame obiettivo dei partecipanti presso locali pubblici, occorrerà considerare attentamente i momenti nei quali le persone potranno essere disponibili (come ad esempio la sera durante i giorni lavorativi) e i periodi dell'anno che consentono tali indagini.

### **Aspetti etici degli studi sull'uomo**

La sezione del protocollo che si occupa dei soggetti descrive la partecipazione delle persone allo studio, precisando i benefici attesi ed i possibili danni che ne derivano, secondo il punto di vista dei partecipanti allo studio. Il protocollo deve descrivere i metodi di selezione e arruolamento delle popolazioni per lo studio, le procedure mediche che saranno utilizzate e le misure per tutelare la confidenzialità delle notizie riguardanti i singoli partecipanti. È necessario indicare anche come si otterrà il consenso informato e come i risultati saranno riportati ai partecipanti.

Un apposito protocollo etico è abitualmente preparato per essere verificato dai comitati etici o dalle istituzioni. Il protocollo etico descrive i metodi dello studio e fornisce informazioni dettagliate in merito al coinvolgimento ed alla tutela delle persone. Comprende copie dei moduli di consenso da usare. I comitati etici spesso chiedono che il protocollo etico comprenda, come allegato, una copia completa del protocollo di studio. Nel paragrafo 8.3 è descritta la preparazione di una domanda per ottenere l'assenso di individui o di comitati etici.

### **Risorse necessarie**

Nel protocollo va presentata una serie di stime dettagliate sulle risorse umane, finanziarie e materiali necessarie. Si tratta di informazioni utili sia per la programmazione interna che per la richiesta di fondi. Esperienza ed abilità sono indispensabili nella preparazione di una previsione di spesa dettagliata per uno studio molto ampio. Una programmazione carente conduce a sottostime dei fabbisogni, sia di tempo che di denaro.

Componenti essenziali di una previsione di spesa possono essere considerate:

- stipendi (compresi costi indiretti come l'assicurazione medica) del personale (ricercatori, tecnici, amministrativi e personale di supporto), distinguendo personale a tempo pieno e a tempo parziale;
- costi per consulenti e periti;
- costi di viaggio, compreso vitto e alloggio, per personale e consulenti,
- acquisto o noleggio di attrezzature; qualora le attrezzature fossero condivise con altri ricercatori o con altri studi, dovrà essere indicata la proporzione di attrezzature e di costi sostenute dallo studio oggetto del protocollo;
- materiale di consumo, come il materiale d'ufficio, e di laboratorio, come provette per prelievi di sangue;
- stanze da adibire a ufficio, laboratorio e ambulatori;
- pubblicazione dei risultati (per esempio con un rapporto a stampa o mediante pubblicazione sulla letteratura scientifica)
- spese per uso di computer, manutenzione delle attrezzature, telefonate.

La lista delle spese previste per ciascuna voce va accompagnata da una relazione che spieghi e motivi ciascun costo previsto. Questa relazione è indispensabile nel caso di presentazione del protocollo alle autorità per l'approvazione o il finanziamento. Altrimenti sarà utile come documento interno per correggere la programmazione finanziaria nel caso in cui mancassero finanziamenti previsti.

### **Personale e mezzi**

Il protocollo di studio deve elencare i principali partecipanti e il personale (si veda al paragrafo 8.4). Le competenze del personale devono venire documentate qualora sia previsto l'invio del protocollo per l'approvazione a finanziatori o istituzioni esterne. Anche nel caso ciò non fosse necessario, questa documentazione potrebbe essere comunque utile, per aiutare i nuovi collaboratori a familiarizzare con le qualifiche formali dei membri del gruppo di lavoro e come fonte documentaria sulle competenze dei ricercatori, qualora lo studio fosse soggetto a valutazione in momenti successivi.

È necessario descrivere le attrezzature e i mezzi, disponibili istituzionalmente, da utilizzare nello studio, soprattutto se si cercano finanziamenti esterni. Gli enti finanziatori in genere vogliono conoscere se i ricercatori dispongono dei mezzi necessari per le ricerche proposte. Qualora il protocollo sia per solo uso interno, non sarà necessaria un'autorizzazione scritta per l'utilizzo che si intende fare dei mezzi, tuttavia è consigliabile. L'autorizzazione scritta indicherà precisamente i termini di tempo della disponibilità delle attrezzature e il responsabile per spese come rifornimenti e riparazioni. Nel caso

di forme di collaborazione, il protocollo deve comprendere anche convenzioni fra i principali soggetti e istituzioni.

### **8.3 Consenso informato e aspetti etici**

È ormai invalso l'uso di allegare ad ogni proposta di ricerca epidemiologica una dimostrazione dell'avvenuta approvazione da parte di un comitato etico. Comitati etici, consigli per l'etica nella ricerca e comitati etici di verifica sono stati formati nella maggior parte delle istituzioni mediche e delle agenzie di sanità pubblica per garantire la tutela dell'interesse pubblico in ogni ricerca medica. Questi comitati comprendono generalmente un membro rappresentante di gruppi non professionali e altri appartenenti a varie discipline mediche, scientifiche, legali e filosofiche. Ulteriori considerazioni sugli aspetti etici nella ricerca epidemiologica sono discussi nel Capitolo 3, mentre in questo paragrafo sono descritti gli aspetti etici connessi allo svolgimento di ricerche su soggetti umani.

#### **Procedure per ottenere l'approvazione etica**

Il completamento di una richiesta di approvazione etica richiede la descrizione da parte del richiedente degli scopi della ricerca e l'indicazione delle conseguenze prevedibili. L'attenzione è posta sul rispetto dei diritti dei partecipanti allo studio, pertanto non deve essere descritto solo l'aspetto scientifico della ricerca, ma anche i motivi che rendono indispensabile la partecipazione dei soggetti allo studio. Devono essere allegati i moduli informativi e i documenti per la raccolta del consenso informato, per una loro valutazione ad opera dei comitati etici, soprattutto nel caso in cui i partecipanti allo studio possano ricevere un danno (per esempio attraverso l'effettuazione di una iniezione venosa oppure raccogliendo informazioni personali registrate in questionari che potrebbero essere male utilizzati). Tutte le procedure previste devono essere descritte con linguaggio comprensibile a non tecnici, in considerazione del fatto che i comitati, in genere, si avvalgono di qualche componente privo di conoscenze tecniche.

Talvolta gli studi di epidemiologia ambientale si basano esclusivamente su dati registrati già esistenti. Tuttavia lo studio può ugualmente richiedere l'approvazione di un Comitato etico: in questo caso l'aspetto etico più importante è rappresentato dalla tutela della riservatezza.

I componenti dei comitati etici vogliono essere certi anche che lo studio garantisca un risultato utile, altrimenti il tempo speso dai partecipanti e i fondi forniti dalle strutture pubbliche sarebbero sprecati.

#### **Compilazione della domanda per il comitato etico**

Ogni istituzione possiede propri moduli per la valutazione etica, ma i requisiti sono simili nella maggior parte di questi. La Tabella 8.3 riporta un elenco delle voci da compilare in un modello tipico di domanda.

**Tabella 8.3 Voci da compilare in una domanda di valutazione etica**

- 
- Titolo
  - Riassunto con parole semplici
  - Obbiettivi dello studio e ipotesi specifiche
  - Individuazione del problema
  - Significato dello studio, non solo rispetto al mandato dell'istituzione ma anche in termini di sanità pubblica
  - Credenziali dei ricercatori, per consentire agli esaminatori di valutarne la competenza in relazione agli obbiettivi:
    - illustrazione dei potenziali conflitti di interesse
    - firma originale dei ricercatori e supervisori
  - Metodologia dello studio:
    - sommario del disegno dello studio
    - considerazioni sulla dimensione del campione (quanti soggetti richiede lo studio)
    - spiegazione delle procedure per campionamento e arruolamento
    - criteri di inclusione ed esclusione dei soggetti
    - procedure di controllo della selezione e criteri per l'inclusione di controlli
    - fonti dei dati e dati da raccogliere sulle persone
    - valutazione degli esiti e metodi per il follow-up dei partecipanti
    - archiviazione dei dati e procedure di revisione e controllo
  - Risultati: diffusione dei risultati ai partecipanti, al pubblico, ai colleghi
  - Considerazioni finanziarie con spiegazioni sull'uso di attrezzature e servizi:
    - descrizione di ogni forma di compenso prevista per i partecipanti
    - informazioni sugli sponsor, evidenziando eventuali conflitti di interesse
  - Considerazioni etiche (consenso informato, salvaguardia della riservatezza ecc.):
    - copia allegata del modulo di consenso con tutti gli elementi richiesti
    - avviso degli effetti indesiderati e delle misure necessarie (se disponibili).
- 

#### **Informazioni sui ricercatori e sulle sponsorizzazioni**

La maggior parte dei moduli che le istituzioni sottopongono ai fini etici prevedono l'indicazione dei nomi dei ricercatori coinvolti nello studio, l'istituzione presso la quale sarà condotta la ricerca, il titolo dello studio e le ipotesi scientifiche indagate con lo studio. E' richiesta anche la firma del proponente lo studio e del supervisore. Va indicato anche il finanziatore interpellato. I moduli sono rivolti a evidenziare il potenziale conflitto di interessi relativo al finanziamento e conseguentemente pongono l'accento sulle questioni inerenti le retribuzioni.

#### **Domande sulle procedure proposte**

Altre domande riguardano il tipo di disegno dello studio e gli interventi in progetto. Informazioni sui precedenti dello studio consentono ai valutatori etici di comprendere la necessità della partecipazione delle persone allo studio. In questa fase sono generalmente richieste descrizioni dei criteri di inclusione ed esclusione, comprese le procedure di arruolamento, nonché della metodologia che si intende adottare, con particolare riferimento a eventuali manipolazioni, ove previste, dei partecipanti. Deve essere chiaramente indicato se lo studio si basa su registrazioni esistenti, senza comportare alcuna partecipazione diretta dei soggetti.

Una valutazione accelerata può essere utilizzata da alcune istituzioni nel caso in cui lo studio:

- richieda la sola raccolta di campioni ematici o urinari;
- e/o la valutazione di cartelle mediche;
- e/o la valutazione di altri dati già registrati;
- e/o l'uso di un questionario;
- e/o l'uso di campioni raccolti in maniera non invasiva o di materiali normalmente eliminati, come i capelli;
- e/o se il progetto è un protocollo clinico ripetitivo, approvato in precedenza.

### **Domande su eventuali danni e benefici**

Dovrà essere fornita assicurazione sulla tutela della riservatezza dei partecipanti e sulla protezione dall'esposizione a sostanze pericolose, come le radiazioni, nel caso in cui questa eventualità sia ricompresa nell'indagine. Il richiedente deve spiegare chiaramente anche i risultati attesi dallo studio.

### **Consenso informato**

Un modulo di consenso informato, sebbene non rappresenti un requisito generale, è comunemente usato per trasmettere informazioni sullo studio a ogni partecipante. Deve essere scritto in un linguaggio facilmente comprensibile da ogni persona che può essere scelta per lo studio. Contribuirà pertanto ad una adeguata comprensione ed a un consenso effettivamente informato. Nel caso di partecipanti analfabeti, le informazioni del modulo devono venire lette ad alta voce. Se la popolazione in studio comprendesse diversi gruppi etnici, potrebbe essere necessario stampare i moduli in più lingue.

Il consenso informato richiede che ciascun partecipante:

- sia pienamente informato sulla natura dello studio e su ciascuna procedura;
- non sia forzato a partecipare in nessun modo;
- abbia la possibilità di fare domande sullo studio;
- riceva risposte a queste domande;
- abbia la possibilità di abbandonare lo studio in ogni momento, senza conseguenze.

Il modulo di consenso deve comprendere un'indicazione sulla durata della partecipazione richiesta e copia del documento deve essere consegnata alla persona dopo la firma. La Tabella 8.4 mostra un esempio delle voci che deve contenere un modulo di consenso informato, per ricerche finanziate dal governo federale degli Stati Uniti.

La procedura del consenso informato consente di indicare titolo e scopi dello studio diversi dai reali, anche se ciò può apparire non corretto dal punto di vista etico. È tuttavia necessario ricorrere a questo espediente, in particolar modo nel caso di studi di epidemiologia ambientale, poiché la conoscenza di un preciso titolo o di precisi scopi dello studio da parte dei soggetti coinvolti può comportare risposte non veritiere, rendendo impossibile una corretta interpretazione dei risultati. Se, ad esempio, in uno studio l'agente indagato è il fumo, è legittimo allargare gli obbiettivi e il titolo a "inquinamento ambientale". Il questionario potrà ovviamente comprendere specifiche domande sul fumo.

**Tabella 8.4 Elementi richiesti in un modulo di consenso informato**

- 
- Dichiarazione che lo studio comporta ricerche
  - Spiegazione degli scopi delle ricerche
  - Spiegazioni relative alla frequenza, ai tipi di attività o alle procedure e alla durata previsti per la partecipazione del soggetto. Descrizione delle procedure da seguire.
  - Identificazione delle procedure di tipo sperimentale
  - Descrizione dei possibili rischi o disagi per il soggetto. Descrizione di ogni possibile ragionevole vantaggio per il soggetto o per altri
  - Definizione del livello di confidenzialità dei dati identificanti il soggetto
  - Identificazione delle compensazioni e/o delle cure mediche disponibili e previste in caso di lesioni, oppure di dove rivolgersi per reperire ulteriori informazioni
  - Identificazione dei contatti per informazioni relative alla ricerca e ai diritti del soggetto e nel caso di lesioni conseguenti
  - Dichiarazione sulla volontarietà della partecipazione. Il rifiuto a partecipare non comporta sanzioni e il soggetto può decidere di terminare la partecipazione in qualunque momento.
  - Uso di un linguaggio semplice, adatto alla tipologia dei soggetti, per la stesura del formulario di partecipazione
  - Dichiarazione concernente gli interessi di tipo finanziario che i ricercatori possano avere relativamente ad un particolare studio o programma
  - Nota: requisiti aggiuntivi per il consenso possono essere necessari per ricerche che coinvolgano particolari fasce della popolazione (ad esempio un modulo di assenso per i minori o traduzioni del modulo stesso per i soggetti che parlano una lingua diversa).
-

## **8.4 Composizione del gruppo di ricerca**

La composizione del gruppo di ricerca di uno studio di epidemiologia ambientale dipenderà dal progetto, dagli scopi e dagli obiettivi dello studio. Per studi preliminari, il cui scopo è di formulare ipotesi, può essere sufficiente un solo investigatore. Un piccolo gruppo di studio può comprendere da 3 a 5 persone. Nel caso di studi di carattere complesso, che richiedono la raccolta di numerosi dati di laboratorio e sul campo, può essere necessario ricorrere ad un team principale composto da diversi specialisti. Questo tipo di team di studio può già essere presente in alcune Pubbliche Amministrazioni oppure può essere necessario costituirlo appositamente per portare a termine lo studio in questione.

### **Coordinamento della ricerca ed epidemiologia**

In un gruppo di ricerca coinvolto in uno studio di epidemiologia ambientale è l'epidemiologo ad assumere, solitamente, la direzione, poiché dispone della miglior prospettiva globale relativa al progetto e di familiarità con le altre materie attinenti. La pianificazione generale e la conduzione dello studio, la standardizzazione delle procedure, il controllo della qualità, l'accurata analisi, interpretazione e registrazione dei dati sono responsabilità del coordinatore.

### **Principali collaboratori e specialisti**

#### **Specialisti clinici**

Per gli studi che richiedono esami medici o misurazioni cliniche, è necessario ricorrere all'aiuto di specialisti clinici, anche se l'epidemiologo del gruppo è un medico. L'inserimento di un clinico nel gruppo consente di garantire che la diagnosi e la classificazione degli effetti sulla salute o le malattie riscontrate nei casi concordino con la pratica e la visione diagnostica correnti. Può essere necessario che i soggetti dello studio si rechino dal clinico, sebbene lo sviluppo di attrezzature portatili per i test clinici renda oggi l'esame sul campo più semplice.

Gli specialisti clinici partecipano agli studi di epidemiologia ambientale in veste di co-ricercatori o di valutatori clinici esperti. Prima di considerare uno specialista co-ricercatore, il coordinatore del gruppo è tenuto a valutarne le qualifiche e la reputazione, poiché potrebbero essere assegnate allo specialista co-ricercatore responsabilità relative a tutti gli aspetti clinici dello studio.

Il ruolo di valutatore clinico esperto è diverso da quello di co-ricercatore, in quanto il primo si limita alla misurazione delle variabili degli esiti clinici. Ad esempio, egli può essere membro di un gruppo di medici responsabili per la valutazione indipendente di dati clinici di vario tipo. In questo caso non è necessaria alcuna specializzazione in tecniche di ricerca, mentre sono obbligatorie qualifiche cliniche certe e la consapevolezza dell'importanza di attenersi al protocollo dello studio.

#### **Specialisti della valutazione dell'esposizione**

Negli studi di epidemiologia ambientale, la valutazione dell'esposizione a inquinanti ambientali riveste la stessa importanza della valutazione degli effetti sulla salute dei soggetti. Il ruolo degli studiosi che si occupano del monitoraggio dell'aria, ad esempio, è cruciale per stabilire relazioni esposizione-risposta per l'inquinamento atmosferico. Uno specialista della valutazione dell'esposizione collabora con il coordinatore del gruppo di ricerca nella creazione di un protocollo di valutazione dell'esposizione, includendo riferimenti a campionamenti e monitoraggi ambientali, trasporto ed esame dei campioni, analisi di laboratorio e interpretazione dei risultati. Lo specialista deve inoltre occuparsi della calibratura degli strumenti e dell'ottemperanza delle procedure per il controllo di qualità.

Se uno studio richiede l'impiego di attrezzature sofisticate, è consigliabile avere nel gruppo un esperto nella riparazione e manutenzione delle attrezzature. Anche se per uno studio ci si avvale di semplici attrezzature, quali campionatori dell'aria, la presenza dello specialista consente di ridurre i tempi di inattività, nell'eventualità di un guasto. In alternativa, qualora un manutentore non fosse disponibile a tempo pieno, è consigliabile addestrare il personale a tal fine. Tale addestramento può rivelarsi fondamentale in paesi in via di sviluppo, dove strutture locali per riparazioni sono assenti.

### **Specialisti di laboratorio**

La maggior parte degli studi di epidemiologia ambientale comporta la raccolta di campioni ambientali o biologici. Pertanto devono essere impiegati esperti di laboratorio per l'analisi dei campioni. Considerazioni relative alla qualità delle analisi di laboratorio e ai costi e fattibilità delle stesse possono incidere in modo determinante sulla progettazione dello studio. Di conseguenza, è necessario coinvolgere gli esperti che si occuperanno delle analisi di laboratorio fin dalle prime fasi della pianificazione dello studio.

In molti casi, è possibile raccogliere i campioni sul campo e trasportarli al laboratorio dove sono analizzati, anche se per questo sono necessarie procedure speciali di manipolazione. Ad esempio, per uno studio relativo all'esposizione ad un pesticida organo-clorurato nello stato delle Hawaii, i ricercatori ottennero campioni di latte umano e siero da soggetti di tutte le isole (Baker *et al.*, 1991). Tali campioni vennero preparati in laboratori medici locali e quindi congelati in contenitori appositi che, confezionati con ghiaccio secco, furono inviati con posta urgente a laboratori di ricerca selezionati sulla base delle competenze degli studiosi, anche se non posti nelle vicinanze del luogo di raccolta dei campioni.

### **Specialisti nell'elaborazione computerizzata dei dati e nell'analisi statistica**

Solitamente, l'opinione di un esperto in statistica è richiesta anche per studi di piccole dimensioni. Egli deve essere in grado di usare computer e microcomputer per la gestione dei dati e le varie tipologie di software e hardware disponibili, per l'analisi di quantità e qualità di dati più disparate.

Il compito dell'esperto in statistica include il collaborare con il coordinatore del gruppo di ricerca per selezionare e finalizzare il disegno dello studio, determinare le procedure per la selezione dei soggetti dello studio e creare questionari e altro materiale per la raccolta standardizzata di dati. Egli formula, insieme al coordinatore, le ipotesi quantitative dello studio, al fine di garantire che l'analisi statistica tenga conto delle ipotesi.

Durante lo studio, l'esperto in statistica verifica i dati e le cartelle originali, indicando eventuali omissioni, inconsistenze o errori. Egli inoltre valuta la qualità dei dati paragonando i dati raccolti da diversi osservatori e codificatori ed assiste il coordinatore nell'analisi e nell'interpretazione dei dati.

### **Intervistatori e tecnici**

Gli intervistatori e i tecnici hanno spesso un ruolo altrettanto importante del personale chiave. Il compito degli intervistatori è di ottenere dati mediante i questionari, mentre quello dei tecnici è di raccogliere campioni ambientali ed eseguire esami clinici. Qualora personale addestrato non fosse a disposizione, sarà necessario addestrarne altro per i compiti specifici.

Se la somministrazione del questionario richiede conoscenze mediche approfondite, gli intervistatori devono essere scelti tra infermieri o altro personale con addestramento medico o con l'esperienza necessaria. In questo modo è garantita l'accuratezza dei risultati e migliorato il rapporto costi-efficacia. Questo vale in particolare nei casi in cui siano necessarie informazioni su sintomi molto simili. Infermieri e tecnici medici sono solitamente impiegati quali intervistatori per la loro esperienza di contatto diretto con il pubblico e i pazienti. Allo stesso modo, sociologi e professionisti delle comunicazioni di massa sono chiamati a collaborare a un progetto per le competenze di comunicazione. Intervistatori con addestramento speciale sono necessari nel caso in cui i soggetti dello studio siano disabili (ad esempio, ciechi o sordi) o analfabeti.

Anche gli studenti di medicina o di sanità pubblica possono essere utilizzati quali intervistatori. In questo caso esiste il vantaggio di lavorare con persone al corrente della necessità di evitare bias e professionalmente responsabili. Tuttavia, essendo generalmente disponibili solo durante le vacanze, possono non essere in grado di partecipare agli studi per periodi prolungati.

Anche i tecnici responsabili del monitoraggio personale o dell'esame dei soggetti dello studio devo-



no possedere buone doti di comunicazione. Ad esempio, devono essere in grado di motivare i soggetti a partecipare e cooperare attivamente. Il numero di intervistatori e tecnici necessario dipende dal progetto e dagli obiettivi e scopi dello studio. E' necessario, comunque, utilizzarne un numero ottimale, al fine di minimizzare bias di osservazione e differenze tra osservatori. L'assegnazione casuale di intervistatori e tecnici ai vari soggetti rende possibile ridurre il bias da intervistatore.

Nel caso di uno studio su grande scala, può essere necessario ricorrere all'impiego di intervistatori e tecnici esperti con compiti di supervisione. Uno dei compiti principali è di assicurare che i questionari e altri formulari vengano completati correttamente, consegnati e controllati e che i test o i campionamenti vengano eseguiti correttamente.

#### **Altri membri del gruppo di ricerca**

Altre figure professionali possono essere di aiuto nella preparazione di questionari e nella pianificazione di interviste (ad esempio sociologi, psicologi), test (ad esempio fisiologi, tossicologi), procedure di campionamento ambientale (ad esempio igienisti industriali, chimici). La loro collaborazione può essere parziale ma cruciale per lo sviluppo di una strategia di campionamento corretta.

Infermieri, tecnici sanitari, aiuto-infermieri, assistenti sociali e volontari possono fornire informazioni relative alla comunità di importanza fondamentale per la pianificazione dello studio, in quanto conoscono l'area di studio, i costumi sociali, lo stato di salute e altre caratteristiche relative alla comunità oggetto di studio. Essi possono, inoltre, suggerire soggetti adatti, ma in questo caso è necessario intervenire per garantire una selezione non pilotata.

Nel caso di studi su larga scala, può essere necessario ricorrere a impiegati, segretarie e telefoniste per fornire il supporto amministrativo al personale assegnato al lavoro sul campo, agli intervistatori, ai tecnici e allo staff di progetto. Per studi su piccola scala, impiegati e aiuti di laboratorio rappresentano solitamente il personale di supporto necessario.

### **8.5 Effettuazione di uno studio**

La qualità dei risultati di uno studio dipende in gran parte dalla pianificazione e preparazione della raccolta dei dati da parte dei ricercatori. Per questo motivo, prima di passare alla raccolta dei dati, chiamata "studio principale", è necessaria una fase di preparazione durante la quale sono finalizzati i dettagli del piano, testati gli strumenti dello studio, addestrati i membri del gruppo di ricerca e pianificata la logistica di ogni raccolta dei dati sul campo o relativi alla comunità.

#### **Fase preparatoria**

Esistono due tipologie di raccolta dati di base: una prima si basa su dati esistenti relativi a mortalità, morbosità, disabilità, ricoveri ospedalieri o accessi al pronto soccorso, assenteismo scolastico o lavorativo e dati di monitoraggio ambientale; una seconda richiede il contatto diretto con i soggetti o la raccolta di campioni ambientali.

Se uno studio si deve basare sui dati esistenti, è necessario richiedere il permesso alle autorità o istituzioni competenti per accedere e utilizzare tali dati. È inoltre necessario verificare la completezza, il periodo coperto e la frequenza di raccolta dei dati (ad esempio settimanale, mensile, annua). Sono altresì necessari dati sull'estensione territoriale (ad esempio aree geografiche interessate dal censimento) e se i dati possano essere suddivisi in aree di studio di dimensioni inferiori, che differiscono dalle aree amministrative municipali. È anche necessario determinare se i dati esistenti sono stati raccolti secondo modalità che ne consentono l'utilizzo diretto per lo studio.

Se è necessario il contatto diretto con soggetti, in fase preparatoria occorre provvedere a:

- negoziazione con autorità locali, capi della comunità, associazioni professionali e così via;
- acquisto o affitto di attrezzature o altro materiale;
- preparazione delle istruzioni per gli addetti al lavoro sul campo, incluse specifiche per la compilazione dei moduli (fra cui le istruzioni per la codificazione);

- identificazione e addestramento dei membri del gruppo di studio sul campo;
- test preliminare dei questionari;
- test preliminare delle attrezzature e degli osservatori;
- test preliminare delle procedure e del contenuto su alcuni dei soggetti in studio;
- affitto di aree e strutture per lo studio sul campo e le attrezzature ;
- impostazione dei programmi o software per l'analisi dei dati.

#### **Accordi con autorità locali, popolazione oggetto dello studio e altri gruppi di interesse**

È sempre necessario ottenere la cooperazione e l'approvazione delle autorità locali. In alcuni paesi, una ricerca di epidemiologia ambientale non può essere intrapresa senza la preventiva autorizzazione delle autorità. Gli obiettivi e gli aspetti organizzativi dello studio devono essere presentati alle autorità, per convincerle che lo studio è eseguito nell'interesse della comunità ed i ricercatori devono poter garantire che le metodologie utilizzate non sono dannose. Una volta ottenuta l'approvazione delle autorità locali, solitamente è possibile chiederne la collaborazione per ottenere accesso ai dati di monitoraggio ambientale raccolti nell'area in studio, o a strutture per le indagini sul campo, quali uffici per il personale o spazi per gli esami clinici.

Prima di intraprendere uno studio, è inoltre necessario incontrare i leader delle comunità ed i rappresentanti dei gruppi di interesse o delle associazioni professionali, per fornire informazioni sullo studio e richiedere collaborazione e assistenza. È necessario descrivere la valenza dello studio ma non esagerare i risultati attesi, per prevenire delusioni qualora tali risultati non fossero confermati dallo studio.

La modalità informativa della natura e dello scopo dello studio dipende dal suo disegno. Qualora si richieda la partecipazione di larga parte della popolazione, i sistemi più efficienti sono solitamente incontri o comunicazioni tramite i mass media (radio, giornali o televisione se disponibile). Se, al contrario, il numero di persone coinvolte è ridotto, è preferibile ricorrere al contatto individuale diretto, mediante telefono, lettera o visita a domicilio.

#### **Identificazione dell'ambito di campionamento e dei metodi di campionamento**

L'identificazione dell'ambito di campionamento deve essere orientata sulle ipotesi e gli obiettivi dello studio (i concetti relativi all'ambito e ai metodi di campionamento sono descritti nei Capitoli 3 e 6). Un ricercatore dovrebbe eseguire una valutazione preliminare dell'ambito di campionamento durante la fase preparatoria dello studio, per confermare che lo schema di campionamento è rappresentativo delle caratteristiche della popolazione oggetto dello studio, come richiesto, che è possibile ottenere una copertura adeguata e che il numero di partecipanti che può essere tratto dal campione è sufficiente per ottenere la precisione statistica necessaria. Durante lo studio pilota è possibile eseguire una verifica finale del campione e determinare se siano necessarie rettifiche o modifiche.

#### **Addestramento del personale**

Il personale di supporto dello studio deve essere addestrato da esperti del settore o da personale già addestrato. All'inizio dell'addestramento, è necessario fornire a tutto il personale le istruzioni e i moduli da utilizzare durante lo studio. Quindi, è necessario illustrare obiettivi e organizzazione dello studio ed i metodi di indagine proposti. L'addestramento di gruppo è di solito più efficiente e meno costoso dell'addestramento individuale. Idealmente, il personale dovrebbe essere reperito e addestrato all'inizio del progetto; se rimane per l'intero progetto, saranno minime le variazioni dovute all'osservatore ed i costi dell'addestramento saranno anch'essi ridotti.

Gli addestratori devono fare in modo che il personale capisca tutti gli aspetti dello studio in modo che a loro volta essi siano in grado di descriverlo ai partecipanti, così da non introdurre bias. Inoltre, i questionari utilizzati devono essere spiegati in dettaglio agli intervistatori e devono essere fornite istruzioni scritte dettagliate relative alle modalità di somministrazione. È altresì importante spiegare come evitare errori sistematici durante le interviste (vedere, ad esempio, le istruzioni per gli intervistatori partecipanti allo studio Epidemiology Standardization Project della American Thoracic

Society) (Ferris *et al.*, 1978). I questionari possono essere somministrati in condizioni simulate, al fine di identificare eventuali errori sistematici dell'intervistatore e modificare le tecniche di intervista, se necessario.

L'addestramento deve inoltre aiutare gli intervistatori a sviluppare capacità di relazione interpersonale, per motivare gli intervistati, conquistarne la fiducia e convincerli che la loro partecipazione allo studio è importante. La tecnica del "role playng", in cui gli intervistatori si alternano nel ruolo di intervistatore e intervistato, usando il questionario proposto, è estremamente efficace per l'addestramento. Gli intervistatori devono inoltre essere addestrati a capire l'effetto che il loro comportamento, abbigliamento e linguaggio può avere sui partecipanti e della necessità di conoscerne le abitudini sociali.

Deve essere previsto un piano per l'addestramento di nuovo personale nel caso in cui sia necessaria una sostituzione durante lo studio. È un errore comune addestrare in maniera più o meno informale i nuovi operatori, una volta che l'addestramento iniziale è stato completato. Una soluzione può essere costituita dall'utilizzo delle stesse modalità e degli stessi materiali per tutti gli addestramenti. In alcuni grandi studi, i ricercatori registrano le sessioni dell'addestramento per consentire al personale aggiunto in un secondo tempo di utilizzare questi video.

#### **Stesura e verifica preliminare di moduli e questionari**

La fase preparatoria è utilizzata per la stesura e per il test preliminare di tutti i moduli e questionari per assicurarsi che essi facilitino una corretta ed efficiente raccolta e registrazione dei dati. La facilità di estrazione dei dati dai moduli a fini di tabulazione, codifica o inserimento diretto in un computer deve essere testata prima di passare alla versione finale del formato del modulo. Il formato deve essere tale da minimizzare la necessità di copiare o estrarre dati da moduli completati sul campo o in laboratorio. Tale copia dei dati è tuttavia inevitabile nel caso di esami clinici diversi, eseguiti presso ospedali, o di dati estratti dalle statistiche demografiche. Nel primo caso, il codice identificativo del soggetto deve essere posto in evidenza in ogni modulo e usato conformemente. In alcuni casi, gli intervistatori possono ricorrere a computer portatili per l'inserimento diretto dei dati durante le interviste, riducendo le possibilità di errore. Prima di elaborare il formato elettronico del modulo, è tuttavia necessario seguire le fasi di base per la sua creazione.

La preparazione dei moduli deve includere le seguenti procedure:

- elenco di tutti i dati necessari nel modulo; se i dati devono essere copiati da file esistenti, come le statistiche demografiche, il contenuto del modulo deve basarsi sui dati disponibili; gli spazi vuoti rappresentano uno spreco e sono frustranti;
- eliminazione di dati superflui o ridondanti;
- ordinamento dei dati in sequenza;
- preparazione di una prima stesura del modulo;
- raccolta di commenti e suggerimenti dai membri del gruppo di ricerca, in particolar modo dai futuri responsabili del completamento dei moduli e dell'elaborazione dei dati;
- modifica del modulo, se necessario;
- determinazione di dimensioni, materiali e formato del modulo e creazione di un prototipo;
- prova del prototipo in uno studio pilota;
- verifica della facilità di elaborazione dei dati inseriti;
- versione finale del modulo e stampa.

I questionari rappresentano forse il tipo di modulo più importante usato per il lavoro sul campo, nell'ambito dell'epidemiologia ambientale. Essi devono essere quanto più chiari e facili possibile, non lasciare spazio ad ambiguità ed essere progettati in modo da facilitare il controllo (di completezza ed accuratezza) e l'elaborazione dei dati. Questionari standardizzati, quali il questionario sui sintomi respiratori ATS-DLD (American Thoracic Society e Division of Lung Diseases del National Heart and Lung Institute degli Stati Uniti) (Ferris *et al.*, 1978) rappresentano un punto di partenza importante durante la preparazione di un questionario, in quanto sono stati testati sul campo con suc-

cesso in vari paesi. L'uso di questionari standardizzati facilita inoltre il confronto tra i dati risultanti da studi diversi. Tuttavia, modifiche di minima entità possono essere apportate per adattare i questionari standard alle condizioni locali. Il questionario ATS-DLD è stato, ad esempio, tradotto in numerose lingue. La traduzione può talvolta risultare problematica, poiché alcuni termini non hanno un equivalente diretto in altre lingue, come ad esempio "respiro sibilante" (Osterman *et al.*, 1990). In questi casi un video può essere di aiuto (Shaw *et al.*, 1992).

Il test preliminare di formulari e questionari eseguito prima di intraprendere lo studio principale è particolarmente importante se il gruppo di studio non li ha mai utilizzati in precedenza, se sono stati tradotti o se sono stati utilizzati in contesti socio-culturali diversi. I questionari dovrebbero essere standardizzati al fine di garantire accuratezza e comparabilità, ma devono anche essere in grado di rilevare con accuratezza e precisione la situazione locale in esame.

#### **Procedure per le analisi di laboratorio e per la gestione dei dati**

Se lo studio prevede i test di laboratorio, è necessario stabilire all'inizio le procedure da seguire in laboratorio. Durante la fase preliminare, tutti i metodi di misurazione dovrebbero essere valutati per verificare che i risultati ottenuti da tutti gli strumenti e da tutti gli osservatori siano validi. Questo solitamente si ottiene misurando l'affidabilità (riproducibilità) delle misurazioni. Se sono disponibili riferimenti a specifici metodi di misurazione (ad esempio campioni con concentrazioni di piombo conosciute), l'affidabilità deve essere controllata eseguendo analisi sul materiale di riferimento. È inoltre necessario valutare l'accuratezza, la precisione, la sensibilità e la specificità degli strumenti.

Errori negli esami di laboratorio possono essere causati da interruzioni nell'erogazione di energia elettrica o variazioni nel voltaggio. In questi casi, è necessario predisporre contromisure come, ad esempio, ricorrere all'uso di strumenti più semplici o procedure analitiche per l'uso sul campo. È necessario paragonare i metodi alternativi e apportare le necessarie rettifiche.

Nel corso dello studio, i dati possono risultare da più fonti (ad esempio intervistatori, laboratori, ospedali, dipartimenti demografici di statistica) e in periodi di tempo diversi. Il flusso dei dati dalla fonte al luogo di raccolta e analisi deve per ciò essere pianificato e controllato. I metodi per la raccolta e l'informatizzazione dei dati devono essere determinati durante la fase preparatoria. Le modalità di inserimento, correzione e controllo dei dati devono essere pianificate, come pure le modalità di produzione dei resoconti. È preferibile, prima che lo studio sul campo abbia inizio, preparare programmi che consentano la creazione e la manipolazione di file, il controllo di errori e della coerenza dei dati per ogni soggetto dello studio. I programmi possono essere creati oppure scelti tra quelli esistenti, quali ad esempio EpiInfo (reperibile tramite WHO o CDC\* negli Stati Uniti) o SAS o SPSS (per l'analisi statistica). È possibile controllare la rispondenza e la validità dei programmi usando documenti test appositamente preparati. Si consiglia di inserire volutamente errori in tali documenti e di controllare se i programmi funzionano come previsto.

#### **Valutazione di fattibilità**

È necessaria una valutazione della fattibilità dello studio proposto, prima o contemporaneamente allo studio pilota. Nella Tabella 8.5 sono elencati gli elementi principali da valutare. A seguito della valutazione, si può decidere di eseguire lo studio così come inizialmente progettato oppure di modificarlo. Ulteriori indicazioni relative alla fattibilità saranno possibili dopo il completamento dello studio pilota.

#### **Studio pilota**

Lo studio pilota consente di valutare globalmente adeguatezza, fattibilità e appropriatezza dello studio previsto. Esso consente inoltre di verificare l'accuratezza delle stime di costi e tempi. Solitamente limitato a due - tre giorni di lavoro in un'unica localizzazione, lo studio pilota deve tuttavia essere una prova completa e progettata in modo da valutare l'adeguatezza di ogni singolo componente (inclusi protocollo, questionari, istruzioni per gli addetti al lavoro sul campo, modalità di trasporto e a-

---

\* Center for Disease Control and Prevention, *n.d.t.*

analisi dei campioni, metodi di analisi statistica dei dati e programmi). È preferibile riprodurre i tempi e lo spirito dello studio reale. Al termine del progetto pilota, il coordinatore deve essere in grado di decidere se abbandonare il progetto, perché assolutamente non fattibile, modificarlo o proseguire come pianificato.

Tra il progetto pilota e lo studio principale è necessario prevedere un periodo di tempo sufficiente a consentire di apportare le modifiche, se necessario. Il progetto pilota rappresenta inoltre un'ulteriore opportunità per la verifica dell'adeguatezza dell'addestramento, in condizioni di lavoro sul campo.

I metodi di analisi dei dati possono essere verificati mediante lo studio pilota, che invece non è previsto come verifica dell'ipotesi dello studio. Lo scopo del progetto pilota è di ottenere informazioni per migliorare i metodi in funzione della loro applicazione allo studio principale. Gli strumenti di misurazione sono, ad esempio, spesso rettificati in base ai risultati del progetto pilota. Pertanto, i dati del progetto pilota non devono essere mescolati con i dati dello studio.

**Tabella 8.5 Checklist per la valutazione di fattibilità**

- 
- Approvazione delle autorità competenti
  - Cooperazione della comunità, gruppi di interesse e istituzioni
  - Valutazione della fattibilità, completezza, applicabilità o utilità dei dati di esposizione ambientale
  - Valutazione della disponibilità e completezza dei dati esistenti sugli effetti sulla salute contenuti in documenti statistici o ospedalieri
  - Verifica delle dimensioni della popolazione presente, per un campione adeguato
  - Reperimento di risorse sufficienti, inclusi fondi, personale qualificato, tempo e attrezzature
  - Verifica della disponibilità di strutture per esami, attrezzature, erogazione di energia e strutture per la raccolta e conservazione di campioni biologici
  - Controllo della disponibilità di strutture per il trasporto di personale e campioni
  - Verifica della disponibilità di laboratori
  - Verifica della disponibilità di computer e programmi per raccolta, analisi dei dati e resoconti
- 

### **Studio principale**

Due sono i concetti principali relativi alla pianificazione e conduzione di uno studio:

- le persone e le attrezzature necessarie devono trovarsi al loro posto al momento specificato;
- interviste ed esami devono essere eseguiti seguendo alla lettera il protocollo o le modifiche apportate a seguito dello studio pilota.

### **Lettera di presentazione**

Nel caso di studi condotti su popolazioni, si raccomanda fortemente l'invio di una lettera che informi i soggetti riguardo a obiettivi dello studio, procedure seguite, tempi previsti e altri dettagli. Tale lettera ha lo scopo di motivare e incoraggiare i soggetti a cooperare con gli intervistatori, a sottoporsi agli esami medici o a completare i questionari. La lettera deve essere firmata dal coordinatore, dal direttore di un istituto medico o da una persona rispettata dai soggetti dello studio. Se la popolazione oggetto di studio è analfabeta o semianalfabeta, un incontro collettivo, un contatto personale o un messaggio inviato tramite gli operatori sanitari di base possono sostituire la lettera. Nel caso in cui si richieda la partecipazione di studenti, i genitori possono essere contattati tramite un insegnante, il preside della scuola o l'associazione dei genitori.

### **Studi basati su interviste**

Le interviste, nel caso di studi basati esclusivamente su queste, possono essere fatte in un ufficio apposito, a domicilio oppure per posta. Se le interviste devono essere fatte da un intervistatore, questo è associato a caso alle abitazioni o ai soggetti da intervistare, secondo quanto previsto da un protocollo,

e viene definito un calendario di appuntamenti per ogni intervistatore. L'assegnazione casuale consente di ridurre la possibilità di bias dovuti a una sistematica diversa modalità adottata dagli intervistatori. Una lettera contenente la richiesta di partecipazione allo studio (a seguire la lettera di presentazione dello studio), indicante ora e nome dell'intervistatore, deve essere consegnata prima dell'intervista.

Se i questionari devono essere autocompilati dai soggetti, è necessario controllare che tutti i soggetti siano alfabetizzati. Il questionario può essere inviato insieme alla lettera di presentazione, oppure separatamente, in base alla situazione. Una registrazione dei questionari inviati e ricevuti consente di monitorare la situazione. Devono essere predisposte procedure particolari da seguire in caso di mancata risposta. Ad esempio, l'invio di solleciti, oppure una visita a domicilio o una telefonata. È necessario predisporre procedure anche nel caso di risposte incomplete, quali ad esempio una telefonata, una visita a domicilio o una seconda lettera.

### **Esami medici e di laboratorio**

Per gli esami medici o di altro tipo, sono necessarie particolari strutture locali da predisporre in anticipo, solitamente disponibili in cliniche, ospedali o scuole. Un edificio scolastico rappresenta la scelta più adatta durante il periodo di vacanza, in particolar modo se è necessario esaminare un gran numero di bambini.

Per incoraggiare i soggetti a partecipare agli esami, le strutture devono trovarsi a breve distanza da abitazioni e posti di lavoro, oppure facilmente raggiungibili con i mezzi di trasporti pubblici, nel qual caso il biglietto deve essere distribuito in anticipo o rimborsato. Per persone con particolari necessità, quali disabili o anziani, è necessario prevedere un servizio di trasporto, oltre a parcheggi adeguati.

Sono solitamente richieste aree di ricevimento, sale di attesa, uffici per le interviste e le visite e servizi igienici. Qualora ai soggetti venga chiesto di non mangiare prima degli esami (come nel caso di radiografie gastrointestinali o esami delle funzioni epatiche), sarà necessario provvedere a un punto di ristoro.

Ai partecipanti allo studio può essere chiesto di partecipare a un esame in vari modi. Qualora un esame medico o altro esame di laboratorio faccia seguito ad un'intervista, gli intervistatori stessi o gli operatori sanitari di base possono richiedere la partecipazione, spiegando l'obiettivo dell'esame e le modalità di esecuzione e garantendo di informare la persona stessa o il medico curante in caso di risultati clinici non regolari. Questo tipo di approccio è in genere considerato il più appropriato. In alternativa, è possibile contattare i soggetti via lettera, ma la percentuale di risposta è solitamente bassa. Prima di iniziare, è necessario predisporre procedure in caso di rifiuto. Una visita a domicilio di un intervistatore o di un addetto della sanità, lettere di richiamo e telefonate sono, generalmente, strumenti adatti. Qualora siano a disposizione strumenti portatili, l'esecuzione degli esami a domicilio consente di aumentare la percentuale di risposta.

### **Follow-up dei partecipanti allo studio**

Gli studi di tipo follow-up dipendono spesso dalla possibilità di mantenere un contatto diretto con i partecipanti, per un periodo di tempo relativamente lungo. Questo tipo di studi è più semplice quando la popolazione è relativamente stabile o esiste una qualche forma di registrazione anagrafica dei residenti. La maggior parte delle autorità locali gestiscono un registro dei soggetti che risiedono o risiedevano nella giurisdizione, incluse informazioni sul luogo di provenienza e sul luogo ove si sono spostati. Al contrario, comunità con un grado elevato di mobilità e senza un sistema di registrazione della residenza, sono solitamente non adatte, specie per studi di coorte. La durata dello studio e la possibilità di rintracciare i soggetti, qualora si spostassero in una nuova area (nome e indirizzo di amici o parenti), sono fattori importanti per decidere di intraprendere uno studio di coorte.

Se il follow-up si basa sull'estrazione di dati da statistiche demografiche, registri, ricoveri o dimis-

sioni da ospedali, è necessario eseguire un controllo per identificare le variazioni che possono verificarsi durante il periodo di follow-up e determinare se tali variazioni possano influenzare la coerenza dei dati. Ad esempio, gli ospedali possono modificare le procedure di ricovero e dimissione rendendo i dati non coerenti. Di conseguenza, i ricercatori devono essere pronti a verificare se questo tipo di procedure viene modificato durante il periodo di follow-up.

#### **Notifica dei risultati ai partecipanti**

I risultati dello studio sono resi noti ai partecipanti come definito prima dell'inizio dello stesso e in base alla natura dei risultati. E' richiesto ai partecipanti un consenso informato, prima dell'inizio dello studio, perciò essi hanno il diritto di essere informati dei risultati.

Se lo studio coinvolge un numero consistente di partecipanti e gli esami medici o altri esami mostrano che la maggior parte dei soggetti sono in buone condizioni fisiche, può non essere necessario fornire una descrizione dettagliata ad ogni singolo partecipante. Si dovrebbe comunque prevedere che il ricercatore informi i singoli partecipanti sulla normalità dei risultati. Inoltre, il ricercatore è tenuto a garantire che risultati clinici diversi dalla norma verranno riferiti agli interessati e al medico curante, non appena rilevati. I risultati possono essere comunicati con una lettera, oppure tramite l'assistenza sanitaria di base locale. In alternativa, la lettera può essere inviata al medico curante, il quale contatterà quindi il paziente proponendo la cura. I membri del gruppo di ricerca devono spiegare da subito che essi non possono proporre trattamenti per le malattie rilevate durante gli esami.

Una volta completato lo studio e iniziate le verifiche, il gruppo di ricerca deve riportare tutti i risultati alle parti interessate, incluse autorità locali, istituzioni e tutti i partecipanti. I risultati possono essere comunicati ai residenti nel corso di un incontro, riassumendo la relazione tecnica, usando un linguaggio e uno stile adatto alla comunità, oppure diffusi mediante i mezzi di comunicazione di massa.

#### **Garanzia della qualità**

La garanzia della qualità è un processo usato per garantire l'accuratezza e la precisione delle misurazioni dello studio, seguendo in modo sistematico una serie di procedure quando si progettano gli strumenti di misurazione, si preparano le raccolte di dati, si usano gli strumenti di misurazione e si elaborano i dati ottenuti. Nel caso di uno studio di epidemiologia ambientale, questo significa fare il possibile per ridurre al massimo l'errore potenziale e l'incertezza. Gli elementi di base della pianificazione del controllo della qualità prevedono procedure per l'addestramento del personale, la raccolta dei dati, la taratura degli strumenti, la gestione e ispezione degli strumenti, le pratiche di laboratorio, la gestione dei dati ed il controllo delle attività dello studio. I principi della garanzia della qualità sono descritti nel Capitolo 3. Armstrong *et al.* (1992) hanno redatto un elenco delle procedure rilevanti per la garanzia di qualità, riportato, adattandolo, in Tabella 8.6. Dalla tabella risulta chiaramente che la raccolta dei dati consiste in numerose fasi e che in una qualunque fase può verificarsi un errore.

È preferibile collaborare solo con i laboratori che eseguono test interni ed esterni per dimostrare la ripetibilità e la riproducibilità dell'esecuzione. Tali test consentono inoltre di eseguire un confronto tra laboratori in modo da rilevare errori sistematici commessi da singoli laboratori. Per essere accreditato, un laboratorio deve seguire strettamente le regole del controllo/garanzia della qualità definite da agenzie certificatrici riconosciute. Anche se un riconoscimento formale non è necessario per la loro attività, i laboratori responsabili seguono procedure operative standard che garantiscono un elevato livello di controllo di qualità.

Per ogni gruppo di dati da raccogliere, è necessario predisporre una procedura di garanzia della qualità separata. La procedura deve definire i seguenti aspetti:

- **Calibratura degli strumenti:** da eseguire per evitare scostamenti sistematici nella lettura e variazioni delle misurazioni quando più strumenti sono usati contemporaneamente. Per alcuni strumenti è possibile usare un dispositivo di calibratura esterno; ad esempio una siringa calibrata per uno spirometro per la verifica della funzionalità polmonare. Se non è presente alcun standard esterno, è necessario creare una curva di calibratura in condizioni controllate (ad e-

- semplio usando campioni di riferimento).
- **Verifica della ripetibilità:** concordanza fra misurazioni successive eseguite nelle stesse condizioni. Alcune procedure, quali i test di funzionalità polmonare, devono essere ripetuti 3-5 volte e i risultati essere compresi in un intervallo predefinito di variazioni per essere considerati validi (si veda ad esempio ATS, 1995). Misurazioni ambientali possono essere validate mediante la raccolta casuale e l'analisi di campioni doppi.
- **Riproducibilità delle misurazioni:** concordanza tra risultati di misurazioni successive eseguite in condizioni variabili (ad esempio operatore, condizioni meteorologiche, luogo e ora diversi). Se la misurazione assume la forma di un'intervista, la riproducibilità dipende dall'accuratezza dell'addestramento seguito.
- **Sensibilità, specificità e limiti del rilevamento:** misurazione dell'esecuzione del test in base a valori veri noti. Queste misurazioni sono spesso determinate analizzando campioni di riferimento con valori noti della variabile ambientale o biologica (ad esempio, campioni di siero con concentrazioni di pesticida note).

**Tabella 8.6 Procedure per il controllo di qualità relativo alla raccolta dei dati per gli studi epidemiologici**

## **Progettazione degli strumenti**

### *Stesura dei moduli*

- Includere tutte le voci necessarie per calcolare le dosi, i tempi di esposizione, e così via
- Includere adeguati identificativi del "soggetto", almeno un numero identificativo e codice digitale o alfabetaico su tutti i formulari
- Istruzioni chiare e raccolta dati non ambigua
- Usare caratteri tipografici diversi per istruzioni, voci di raccolta dati e risposte
- Fornire categorie di risposta univoche ed esaustive per voci a risposta chiusa
- Prevedere formulari con auto-codifiche per voci semplici, ad esempio l'addetto alla raccolta contrassegna un numero corrispondente alla categoria di risposta adeguata
- Rendere i codici di risposta coerenti nei moduli e tra moduli, ad esempio 1 = no, 2 = sì
- Fornire una codifica senza perdita di dati, ad esempio progettare i questionari in modo che i dati continui non siano raggruppati in categorie nella fase di codifica
- Non richiedere agli addetti alla raccolta dei dati di eseguire calcoli
- Progettare i moduli per l'inserimento diretto dei dati nel computer

### *Manuale delle procedure*

- Avere sempre un manuale delle procedure a disposizione.
- Includere almeno le seguenti voci nel manuale delle procedure:
  - descrizione a grandi linee dello studio
  - procedure per la selezione del campione, l'arruolamento e modalità di contatto
  - procedure per il consenso informato e la tutela della riservatezza dei dati
  - metodi generali per la raccolta dei dati
  - spiegazione di domande e risposte, compresi casi particolari
  - procedure di pubblicazione
  - istruzioni per la codifica di voci non codificate automaticamente nei moduli
  - manuali di codifica
- Aggiornare i manuali e distribuire pagine aggiornate in caso di modifiche

## **Preparazione della raccolta dati**

### *Controllo preliminare degli strumenti*

- Far controllare gli strumenti da altri ricercatori
- Eseguire test preliminari su campioni ad hoc
- Addestrare addetti alla raccolta ed eseguire test preliminari degli strumenti su campioni simili a quelli dello studio
- Identificare problemi mediante il confronto con i partecipanti allo studio pilota, gli addetti alla raccol-



- ta dei dati e il monitoraggio della raccolta dei dati; procedere con le modifiche il prima possibile
- Verificare la frequenza delle risposte per identificare le voci con scarsa variazione di risposta

#### *Addestramento degli addetti alla raccolta dei dati*

- Discutere l'importanza di dati completi ed accurati
- Verificare il manuale dello studio
- Esercitarsi nella raccolta dei dati
- Monitorare l'iniziale raccolta dei dati dei singoli addetti

#### **Controllo della qualità durante la raccolta dei dati**

##### *Supervisione degli addetti alla raccolta*

- Assegnare i casi e i controlli in uno studio caso controllo (o i soggetti esposti o non esposti in uno studio di coorte) nelle stesse proporzioni ad ogni addetto
- Mantenere il più a lungo possibile gli addetti alla raccolta all'oscuro dello stato dei soggetti (caso/controllo, esposto/non esposto)
- Replicare una parte della raccolta dati (ad esempio 10% dei soggetti) per identificare dati non veri, voci non affidabili, addetti che commettono errori in certe aree, e così via
- Confrontare la distribuzione delle variabili dello studio tra addetti alla raccolta
- Confrontare la distribuzione delle variabili nel tempo
- Affrontare insieme agli addetti alla raccolta una soluzione immediata ai problemi emersi con il monitoraggio
- Condurre incontri con il personale per addestramento aggiuntivo, discussione di problemi e motivazioni

##### *Compilazione e codifica*

- Controllo immediato da parte degli addetti alla raccolta dei moduli compilati per chiarire le risposte e controllare le voci mancanti
- Secondo controllo subito dopo la raccolta dati eseguito dagli operatori addetti alla validazione dei questionari per identificare voci mancanti, codici non ammessi, incoerenza tra risposte, risposte illeggibili, e così via
- Codifica delle domande a risposta aperta e ricerca delle domande con risposte incomplete
- Correzione degli errori con ulteriori domande ai soggetti (o attraverso controlli dei registri da cui sono tratti i dati)
- Gestione di un registro delle modifiche da parte di un componente dello staff, per garantire la coerenza della registrazione, la codifica di risposte non previste e per registrare commenti e risposte codificate come "altro"

#### **Controllo di qualità durante l'elaborazione dei dati**

##### *Inserimento dati*

- Creare un manuale di codici con il formato e il codice dei dati grezzi non elaborati
- Inserire i dati contemporaneamente alla raccolta
- Verificare tutti i dati mediante doppio inserimento
- Compilare i dati al computer ed eseguire un controllo logico contemporaneamente all'inserimento
- Correggere gli errori e garantire un feed-back significativo con la raccolta dei dati

##### *Creazione di nuove variabili*

- Controllo e ricontrollo dei codici dei programmi usati per creare nuove variabili
- Controllo dell'esattezza delle nuove variabili mediante il conteggio manuale di un campione di dati originali, quando ciò sia possibile
- Verifica della distribuzione delle variabili originali e delle variabili create successivamente
- Creazione di un manuale di codici con descrizioni dettagliate delle nuove variabili create, incluse le variabili originali e il codice di programmazione usato per crearle

Le seguenti attività devono essere oggetto di particolare attenzione, in quanto possono influenzare la qualità dello studio:

- raccolta dei materiali originali (ad esempio raccolta di materiale biologico da soggetti o raccolta di campioni di aria per uno studio sull'inquinamento)
- trasporto di campioni (sono necessarie procedure per evitare la contaminazione o il deterioramento dei campioni, oppure reazioni chimiche tra campioni e contenitori)
- conservazione dei campioni (per l'analisi immediata e per future analisi e riferimenti)
- operazioni analitiche

Le procedure di qualità per la gestione di queste attività possono essere basate in parte su metodologie o linee guida esistenti. Ad esempio, se il laboratorio di analisi segue procedure operative standard, è possibile usare tali procedure per lo studio. Inoltre, è possibile includere regole standard per l'esecuzione delle misurazioni, ad esempio i metodi della spirometria consigliati dalla American Thoracic Society (ATS, 1995).

Oltre ad istituire procedure per la garanzia della qualità per ogni attività di misurazione, è necessario eseguire una verifica di qualità dell'intero studio a intervalli regolari per identificare punti deboli. Le azioni successive per la correzione di tali punti deboli possono includere lo spostamento delle risorse dello studio dove siano più necessarie (ad esempio il passaggio ad un sistema di misurazione più costoso ma più accurato), un addestramento aggiuntivo o una modifica nell'utilizzo degli strumenti.

## **8.6 Strumenti per la gestione e l'analisi dei dati**

Numerose attività dello studio prevedono la definizione delle variabili riguardanti l'esposizione e lo stato di salute da valutare e la scelta dei metodi migliori per la loro misurazione. Tuttavia, onde evitare che gli sforzi compiuti in questo senso siano inutili, i dati raccolti devono essere registrati, elaborati o modificati correttamente. Inoltre, successivamente alla valutazione dei dati ed alla presentazione dei risultati, i dati non devono essere eliminati, poiché può presentarsi la necessità di una seconda analisi al termine dell'indagine principale. Ad esempio, è possibile che una nuova ipotesi venga sviluppata ma debba essere testata mediante un'analisi dei dati. È anche possibile espandere gli scopi dello studio, tramite un'indagine di follow-up del gruppo di studio. È perciò necessario provvedere alla memorizzazione e/o archiviazione a lungo termine dei dati.

### **Software**

La maggior parte degli studi di epidemiologia comporta la raccolta e l'elaborazione di una mole considerevole di dati e quindi l'uso di computer per l'immagazzinamento dei dati. Questo testo presume che tutti i gruppi che conducono uno studio epidemiologico abbiano a disposizione un computer.

I recenti sviluppi del settore rendono possibile l'analisi dei dati su un personal computer. Inoltre, numerosi programmi per l'inserimento, l'analisi e la presentazione grafica dei dati sono oggi a disposizione del ricercatore. Un pacchetto particolarmente utile è EpiInfo, reso disponibile dall'Organizzazione Mondiale della Sanità e dal Centers for Disease Control and Prevention (Atlanta). Questo pacchetto è particolarmente adatto all'inserimento ed alla verifica dei dati e può essere usato su computer portatili sul campo, oltre che sui normali computer da tavolo. I pacchetti disponibili sono vari, ma alcuni sono molto costosi oppure di difficile reperimento. I programmi per l'inserimento e la gestione dei dati includono dBase, FoxPro e Access, mentre sono disponibili vari pacchetti generali di analisi statistica come ad esempio SAS, SPSS, BMDP, STATA e Systat e di analisi di regressione, tra i quali EGRET, EPICURE. Mentre EpiInfo è gratuito, gli altri sono però a pagamento.

### **Collegamenti tra i dati**

In numerosi studi di epidemiologia ambientale, i soggetti sono sottoposti a diverse procedure, quali intervista, visita medica e test di laboratorio. I dati raccolti possono essere memorizzati in database diversi ed è quindi necessario creare un collegamento tra i dati relativi allo stesso soggetto.

L'impiego coerente di un numero identificativo per soggetto in tutti i questionari e moduli facilita questo processo. Se si usano numeri seriali, come ad esempio nelle visite mediche e negli esami di laboratorio praticati nelle cliniche e negli ospedali, è necessario inserirli in un apposito registro per usufruire di un riferimento incrociato con i numeri identificativi. Negli studi di follow-up può essere necessario riesaminare il soggetto una o più volte; in questo caso, ogni modulo usato per un soggetto deve essere contrassegnato dal numero identificativo che gli è proprio.

### **Memorizzazione e immagazzinamento dei dati**

I principali metodi di memorizzazione dei dati sono due: i dati sono raccolti dai partecipanti allo studio o dal personale e registrati manualmente su moduli preparati in precedenza; oppure, i dati sono inseriti direttamente nel computer come nel caso in cui vengano usati questionari computerizzati o strumenti di misurazione dotati di un registratore digitale elettronico. Il secondo metodo prevede un numero inferiore di passaggi e quindi una minore possibilità di errori umani ed è generalmente più veloce, ma non è sempre possibile adottarlo a causa degli alti costi delle attrezzature. Quale che sia il metodo scelto, è necessario procedere alla scelta del software per l'elaborazione dei dati in fase di pianificazione dello studio.

L'inserimento efficiente dei dati dipende da una buona progettazione di moduli e questionari (vedi la parte dedicata alla progettazione e controllo preliminare dei moduli e dei questionari). Inoltre, quando si usano software per la gestione dei dati ed il calcolo statistico, è necessario seguire le seguenti fasi:

1. **Inserimento e controllo formale dei dati.** Include la verifica del tipo (testo, logico, data o numerico), lunghezza del campo e intervallo di valori consentito per ogni variabile. Il software deve essere in grado di rilevare discrepanze e avvisare l'operatore per la correzione dei dati. Numerosi database o pacchetti per l'analisi statistica, incluso EpiInfo, dispongono di questo tipo di funzionalità. Per il pacchetto EpiInfo, il formato di inserimento della variabile è definito nella fase in cui l'editor EPED progetta il questionario.
2. **Doppio inserimento dei dati.** Si consiglia di eseguire un inserimento dei dati da parte di 2 operatori separatamente. Le discrepanze dovute, ad esempio, ad una lettura errata di dati scritti in modo poco comprensibile nel modulo, devono essere corrette per garantire che il dato inserito nel computer corrisponda al dato presente nel formato originale.
3. **Controllo dei collegamenti logici.** È necessario verificare i collegamenti logici tra le variabili. Un esempio di errore è l'inserimento di complicanze da parto nei dati relativi al ricovero in ospedale di un soggetto di sesso maschile (in questo caso, sono stati inseriti in modo errato o il sesso del soggetto o la diagnosi). Se l'errore non è dovuto ad un errore di battitura (come spesso accade), il dato deve essere verificato alla fonte. Nel caso citato dovranno essere controllati i registri dell'ospedale. Se i dati di un soggetto sono raccolti da più fonti, è necessario eseguire un confronto fra di esse. Tuttavia modifiche nel valore delle variabili controllate non indicano necessariamente un errore nella registrazione e/o nell'inserimento dei dati. Esse possono essere dovute a modifiche effettive dei parametri oggetto di studio, oppure ad errori nella registrazione dei dati nell'intervista. Questi ultimi sono di difficile correzione se il controllo non è condotto contemporaneamente all'intervista. In casi estremi, la discrepanza può indicare un errore nel codice identificativo del soggetto. Uno studio longitudinale sulle modifiche di funzionalità polmonare nella popolazione adulta fornisce un esempio evidente. Per un fumatore di 55 anni, è stato registrato un aumento della funzionalità polmonare di 1200 ml (oltre il 30%) negli otto anni successivi alla prima indagine. Questo risultato è molto inverosimile, in quanto in base al declino della funzionalità con l'età, ci si poteva aspettare una riduzione di almeno 300 ml. Nel caso di un altro soggetto, non fumatore di sesso maschile, età 28 anni, veniva rilevata una diminuzione di 1500 ml. Anche questo non è normale, tranne nel caso in cui si sia verificato un deterioramento dovuto a problemi respiratori. Un esame attento dei moduli ha permesso di chiarire che quelli di padre e figlio, che riportavano lo stesso nome di battesimo, erano stati scambiati.
4. **Analisi della distribuzione univariata di ogni fattore.** Se i fattori oggetto di esame sono variabili continue, gli outliers possono essere dovuti a errori di misurazione o registrazione.

Solo dopo avere eseguito i controlli elencati e corretto gli errori nel file dati e anche nel modulo (se l'errore si è verificato prima dell'inserimento dei dati), il file dati può essere considerato "pulito". Una nuova esecuzione delle procedure per la verifica delle correzioni inserite è spesso consigliabile. Per ogni tappa del processo di elaborazione è consigliabile eseguire regolarmente copie di backup dei file di dati e archivarle separatamente dal file di lavoro.

### **Editing dei dati**

I dati raccolti all'inizio dello studio devono spesso essere trasformati per creare variabili per analisi aggiuntive. Queste trasformazioni, o editing dei dati, possono consistere nel combinare più variabili in una singola variabile ben definita. La creazione di una categoria diagnostica "bronchite cronica", partendo da una serie di domande relative alla presenza di tosse e muco, alla loro frequenza e durata negli ultimi anni, rappresenta un esempio. Altri esempi sono il calcolo dell'indice di massa corporea da dati su peso corporeo e altezza, oppure il calcolo dell'esposizione media a partire da una serie di misurazioni eseguite in un determinato periodo di tempo: ad esempio, la concentrazione massima media oraria di ozono nell'aria sulla base di misurazioni eseguite ogni 2 minuti da uno strumento di controllo automatico. Questa prima fase dell'analisi dei dati è descritta anche nel Capitolo 7.

Una regola generale per l'editing dei dati è la memorizzazione delle variabili originali, che devono essere archiviate e rimanere accessibili quale fonte per tutte le nuove variabili create. Se la definizione della variabile trasformata cambia, l'accesso ai dati originali può rivelarsi cruciale per poter calcolare nuove variabili trasformate. Un esempio di "riduzione del dato" impropria è rappresentata dalla registrazione del solo valore medio di una serie di misurazioni relative all'inquinamento atmosferico, rendendo impossibile la ricostruzione della distribuzione delle misurazioni o della frequenza di superamento di un determinato livello. Talvolta, i risultati di una misurazione (che produce un valore continuo) sono convertiti in una variabile indicante il "superamento del livello (standard)". Sebbene questo dato possa essere sufficiente per scopi di regolamentazione, l'assenza di un'indicazione esatta dell'entità di superamento del livello può restringere significativamente l'analisi, nel caso occorra fare una stima delle relazioni quantitative.

La precisione del calcolo nella creazione di una variabile trasformata (indicata generalmente dal numero di cifre significative usate nel calcolo) è importante specie quando devono essere eseguiti calcoli logici o aritmetici usando il computer. Le fasi necessarie includono la definizione delle variabili (ad esempio tipo, lunghezza del campo, numero sufficiente di posizioni decimali) e considerazioni relative alle possibili restrizioni hardware.

Il formato desiderato per i dati finali è fondamentale nella scelta del software. La maggior parte dei pacchetti statistici disponibili fornisce procedure flessibili per l'elaborazione dei dati e crea file di dati di facile inserimento nei programmi di analisi. Tuttavia, alcuni metodi di analisi possono non essere disponibili nel pacchetto usato, oppure si prevede di combinare i dati con altri dati set ed eseguire l'elaborazione altrove. In entrambi i casi, è necessario che i dati vengano registrati in formato compatibile con altri software o hardware (in modo da poter esportare file). Anche la dimensione del file dati da elaborare e analizzare è un fattore importante per la scelta del software, poiché alcuni pacchetti possono prevedere un numero ridotto di variabili, di record o della loro lunghezza.

### **Archiviazione e documentazione**

È necessario provvedere alla memorizzazione e conservazione di varie copie dei file dati puliti. La copia dall'hard disk su un disco estraibile di capacità ampia o su un dispositivo a nastro per il backup è il mezzo più comunemente usato per la memorizzazione e conservazione dei dati. Poiché variazioni della temperatura, campi magnetici o guasti meccanici possono rendere i dischi di backup o i nastri non utilizzabili, è necessario eseguire periodicamente più copie dei files e conservarle in locazioni diverse.

I dati archiviati devono essere documentati, in modo da consentirne una corretta interpretazione anche da parte di coloro che non hanno partecipato allo studio. Questo è particolarmente importante nel

caso di una revisione (audit) dei dati e per ogni nuova analisi. Anche le attività previste dallo studio devono essere documentate con attenzione, e precisamente:

- il protocollo dello studio;
- una descrizione dei metodi usati per la raccolta dei dati (e per le misurazioni);
- una descrizione e i risultati delle procedure per la valutazione/controllo di qualità;
- una copia dei documenti dello studio (moduli, questionari, istruzioni, lettere ai soggetti invitati a partecipare, e così via);
- una descrizione delle procedure per l'elaborazione e l'editing dei dati, incluse descrizioni di tutte le trasformazioni eseguite;
- una descrizione dettagliata di tutti i campi presenti nei file dati;
- una descrizione dettagliata dei codici usati per ogni campo;
- un'indicazione delle unità usate.

Alcuni elementi relativi alle caratteristiche dei dati (ad esempio la definizione dei valori dei codici) possono essere memorizzati nei file del programma dei dati, ma è necessario avere a disposizione una copia su carta della documentazione. La documentazione accumulata nel corso dello studio deve essere preparata in base all'assunto che nessuna decisione è "ovvia".

La riservatezza dei dati personali può rappresentare un problema per la memorizzazione e l'analisi, in quanto l'identificazione dei singoli può essere cruciale per gli scopi dello studio (ad esempio per collegare esposizione e dati relativi allo stato di salute o per collegare dati derivati da fonti diverse), ma l'accesso ai dati personali può violare le regole etiche della ricerca. I codici identificativi usati devono essere tali da impedire l'identificazione non autorizzata dei soggetti partecipanti allo studio. Il mezzo più semplice è rappresentato dalla separazione dei dati personali (nome, indirizzo, data di nascita, e così via) dalle altre informazioni raccolte per lo studio, e dalla memorizzazione di questi e dei codici identificativi corrispondenti (solitamente numerici) in un file separato ad accesso ristretto.

## **8.7 Il contesto dello studio**

### **Studi epidemiologici di comunità**

Le ricerche epidemiologiche sono spesso condotte in risposta a timori dei membri di una comunità che l'esposizione a determinate condizioni ambientali - causate dallo scarico o rilascio di sostanze tossiche, da catastrofi naturali oppure, ad esempio, indotte dall'uomo - possa portare a malattie. Il riscontro eventuale di alterazioni dello stato di salute comporterà come passo successivo la determinazione del possibile ruolo causale delle esposizioni ambientali. Talvolta non è tuttavia possibile raggiungere tale obiettivo con uno studio epidemiologico, a causa di fattori non controllabili (ad esempio una popolazione ridotta in numero o dati relativi ad esposizioni precedenti non disponibili) o a risorse limitate (fondi, personale, tempo).

Prima di intraprendere uno studio epidemiologico in una comunità che ritiene di essere esposta ad un rischio per la salute associato con un'esposizione ambientale, è necessario considerare tre fattori fondamentali:

- il livello di informazione scientifica disponibile nella comunità;
- la quantità e la qualità delle statistiche esistenti sullo stato di salute e dell'ambiente;
- le risorse disponibili per condurre una ricerca epidemiologica.

La percezione del rischio in una comunità è spesso basata su informazioni non adeguate riguardo la plausibilità biologica della eziologia o della frequenza di una malattia. Molte persone sono, ad esempio, convinte che la causa di una malattia rara come un tumore debba essere ambientale. Tuttavia, una pronta risposta sulla frequenza di una data malattia o di effetti sanitari può contribuire in modo decisivo a tranquillizzare. La divulgazione di dati scientifici sulla storia naturale della malattia in questione e l'importanza di misurazioni dell'esposizione per la ricerca dei rapporti di causa-effetto può essere sufficiente. In molti di questi casi, l'esperienza dimostra infatti che uno studio epidemiologico non è necessario.

Gli epidemiologi dovrebbero essere a conoscenza di statistiche relative allo stato di salute ed alle condizioni ambientali che potrebbero avere contribuito o addirittura essere responsabili della percezione del rischio e determinarne l'affidabilità e la validità. Se tale percezione si rivela fondata, è necessario prendere in considerazione l'idea di eseguire uno studio epidemiologico. In caso contrario, la comunità deve essere informata. Può essere necessario descrivere le difficoltà incontrate nell'identificazione della popolazione a rischio e spiegare che i casi di morte o malattia osservati non differiscono da quelli rilevati in altri luoghi, oppure che, sebbene siano state osservate variazioni temporali, queste non costituiscono motivo di allarme.

Una ricerca epidemiologica deve essere intrapresa se i dati ambientali e di salute suggeriscono che una maggiore incidenza di una malattia in una particolare comunità possa essere biologicamente plausibile. Le risorse e il tempo a disposizione devono quindi essere volti a valutare l'esposizione e a determinare gli specifici meccanismi della causa della malattia (piuttosto che a determinare il quadro generale della manifestazione della malattia). Sarà necessario esaminare la fattibilità dello studio proposto.

La partecipazione della comunità deve essere richiesta nelle prime fasi del processo di disegno dello studio, ad esempio quando si decidono gli obiettivi dello studio e si sviluppano i metodi da applicare. Tuttavia, il gruppo di ricerca deve essere attento a fonti di bias che possono essere introdotti se le percezioni dei soggetti dello studio divengono la forza trainante dello studio stesso. Incontri possono essere svolti con i rappresentanti della comunità per spiegare il significato ed i limiti dello studio, la necessità della partecipazione attiva della comunità, e per stabilire un meccanismo per informare la comunità sugli avanzamenti dello studio. I risultati dello studio devono essere comunicati in modo comprensibile.

#### **Studi condotti in comunità con risorse limitate**

Anche se le risorse sono limitate, lo studio deve seguire procedure standard per l'identificazione del problema, la preparazione del protocollo, l'organizzazione del gruppo di ricerca, la raccolta di dati, l'analisi ed il reporting dei risultati. Tuttavia se fondi, personale addestrato e strumenti adatti di laboratorio o di elaborazione dati sono carenti, può essere necessario limitare lo scopo, oppure addirittura evitare lo studio, come nel caso di studi basati su ampi studi pilota sul campo eseguiti in laboratorio quali, ad esempio, quelli sulla valutazione tossicologica di inquinanti ambientali.

Quando si prepara un protocollo di studio, è necessario verificare con cura la letteratura in materia. Molte biblioteche non dispongono di sistemi per la ricerca bibliografica; periodici e riviste di carattere scientifico sono solitamente disponibili presso istituti statali o agenzie poste nelle città principali e questo può essere un problema nei paesi meno sviluppati. E' possibile richiedere assistenza ad organismi statali o ad organizzazioni quali l'Organizzazione Mondiale della Sanità, anche se questo può rallentare lo studio.

La mancanza di personale addestrato può a volte essere risolta con l'aiuto di volontari della comunità (ad esempio operatori sanitari di base), che possono aiutare ad identificare i soggetti per lo studio, facilitare la comunicazione tra rappresentanti delle autorità locali e membri del gruppo di ricerca e fungere da intervistatori, se lo studio include un'intervista. Questi collaboratori devono essere informati in merito agli obiettivi ed alle metodologie dello studio, per poter seguire correttamente le procedure. Può essere offerta qualche forma di incentivo come riconoscimento del contributo allo studio.

Talvolta il personale tecnico che collabora con agenzie governative, in particolare quelle che operano nel settore della salute e dell'ambiente, è disponibile a collaborare allo studio. Tale collaborazione è particolarmente importante nella fase di raccolta dei dati, nella misurazione dell'esposizione, o durante le visite mediche, nel caso che i risultati dello studio debbano essere introdotti in linee guida, decisioni, regole e regolamenti sviluppati dalle agenzie di appartenenza.

I laboratori e gli strumenti hanno la stessa importanza del personale addestrato. Talvolta, i paesi che

dispongono di tali attrezzature le mettono a disposizione gratuitamente o ad un costo nominale per le comunità locali dotate di risorse scarse. E' necessaria una calibrazione interna ai laboratori, per garantire la qualità dei risultati. I laboratori di altri paesi possono, altresì, fornire assistenza per attività specifiche, quali l'analisi di campioni doppi, la calibratura degli strumenti o la condivisione di campioni e reagenti di controllo.

Una ricerca epidemiologica ben condotta richiede risorse considerevoli. Non è tuttavia sempre vero che tali studi possano essere condotti solo se si dispone di computer sofisticati. La compilazione delle mappe di prevalenza del cancro in Cina, ad esempio, è stata eseguita a mano, utilizzando pallottolieri e calcolatrici meccaniche (Atlas, 1987).

La Tabella 8.7 mostra un elenco di punti da considerare quando si intraprende uno studio epidemiologico con risorse limitate.

**Tabella 8.7 Checklist per l'esecuzione di uno studio epidemiologico con risorse limitate**

- 
- Progettare lo studio in base alle risorse ed agli strumenti analitici a disposizione. Per questo tipo di studi l'analisi multivariata non è consigliabile e la dimensione del campione deve essere la minima necessaria ad ottenere la precisione statistica richiesta.
  - Preparare un questionario quanto più semplice possibile, adattandone uno standard utilizzato più volte sul campo in più paesi. È necessario raccogliere solo i dati rilevanti.
  - Trascrivere i dati dal questionario su schede di carta resistenti alla manipolazione e raggruppabili a mano o meccanicamente.
  - Raggruppare le schede per sesso, età, livello di esposizione, livello di istruzione, stato socioeconomico, abitudini (ad esempio il fumo) e così via, in base al disegno dello studio.
  - Contare le schede raggruppate per un determinato scopo (ad esempio il numero di donne fumatrici) e compilare le tabelle necessarie per ulteriori calcoli. Le schede devono essere controllate e raggruppate più volte per ottenere tutti i necessari conteggi.
  - Eseguire conteggi manualmente o con una calcolatrice elettrica o meccanica o con pallottoliere. Un calcolatore programmabile consente di facilitare le operazioni di calcolo per il test di Mantel-Haenszel.
  - Non eccedere: limitarsi all'analisi univariata o bivariata dei dati per le principali variabili.
-

### **Box 8.3 Studio di epidemiologia ambientale nelle Filippine con risorse limitate**

Nel 1992, uno studio epidemiologico su bambini “spazzini” esposti ad inquinamento ambientale ed a condizioni di lavoro pericolose in una grande discarica di Manila, nelle Filippine, è stato portato a termine con successo con risorse limitate. La discarica a cielo aperto di 20 ettari riceveva quotidianamente circa 200 tonnellate di rifiuti urbani, industriali e ospedalieri e circa 1000 bambini (dai 7 ai 15 anni) vi lavorano per almeno 6 ore al giorno. La combustione spontanea del materiale causava una continua emissione di fumi. Lo scopo dello studio era di valutare l'esposizione agli inquinanti atmosferici e lo stato di salute dei bambini. La metodologia utilizzata comprendeva la somministrazione di un questionario alle madri o ai tutori dei bambini, un campionamento dell'aria e dell'acqua, un test di funzionalità polmonare, una visita medica dei soggetti ed un controllo della piombemia.

A Manila, il costo del personale rappresenta generalmente il 50% del budget totale di uno studio. Poiché i fondi erano limitati, il gruppo di studio ha dapprima stilato un elenco delle potenziali risorse umane disponibili, inclusi volontari (membri della comunità e di organizzazioni non governative locali), capi della chiesa, ostetriche e capi della comunità (“barangay”). I soggetti sono stati scelti in base al desiderio di collaborare, alla volontà di seguire un addestramento ed alla disponibilità ad intervistare i partecipanti. Informazioni caratteriali sono state ottenute dai capi della comunità e da supervisori delle agenzie non governative. I selezionati sono stati sottoposti a due settimane di addestramento con sessioni di orientamento, seminari, simulazione del lavoro sul campo e controlli del lavoro sul campo. I soli costi sostenuti sono stati vitto e trasporto. Le responsabilità principali dei partecipanti comprendevano convincere i bambini, i genitori ed i tutori a partecipare allo studio, somministrare il questionario ed aiutare il personale tecnico ad eseguire i campioni ambientali, i test di funzionalità polmonare e le visite mediche.

Le visite mediche sono state eseguite da medici volontari di organizzazioni non governative coinvolte in programmi di miglioramento delle condizioni di vita dei poveri delle aree urbane. Studenti di medicina hanno usato i risultati dello studio nelle proprie tesi o in studi speciali ed hanno contribuito alla ricerca e alla revisione della letteratura.

È stato redatto un inventario delle attrezzature e delle strutture disponibili per la raccolta e l'analisi dai campioni ambientali e biologici, relativo soprattutto a istituzioni governative dei settori ambientali, scientifici e tecnologici, sanitari e accademici. I costi di laboratorio sono stati generalmente nominali poiché tali dipartimenti erano finanziati dal governo.

### **Studi collaborativi e multicentrici**

Studi epidemiologici multicentrici possono coinvolgere più popolazioni e centri di ricerca in un paese; ad esempio lo studio PAARC fu condotto in 24 aree di 7 città francesi (PAARC, 1982). Uno studio multicentrico può essere basato anche su popolazioni di diversi paesi, come nel caso dello studio dell'Organizzazione Mondiale della Sanità e della Commissione della Comunità Europea sugli effetti neurotossici della piombemia nei bambini (Winneke *et al.*, 1990). Gli studi multicentrici hanno vari vantaggi:

- maggiori possibilità di generalizzare i risultati dello studio, poiché l'esame condotto su più popolazioni consente una migliore valutazione della casualità;
- maggior numero di livelli di esposizione;
- diversificazione dei fattori di confondimento non noti o incontrollabili (ad esempio il bagaglio genetico);
- maggiore dimensione del campione;
- distribuzione efficiente di risorse, carico di lavoro e costi;
- utilizzo efficace delle attrezzature più costose o complesse;
- trasferimento di conoscenze da gruppi più esperti a gruppi meno esperti.



Gli studi multicentrici si basano sullo stesso principio degli studi di epidemiologia, ma sono più complessi da organizzare. Particolare importanza riveste la standardizzazione efficace dei metodi di raccolta, elaborazione e analisi dei dati, come pure una comunicazione efficiente tra i gruppi. La pianificazione deve prevedere la possibilità di una distribuzione diseguale delle risorse (ad esempio la disponibilità di specialisti o di strumenti di misurazione) e di alcune differenze nei mezzi di comunicazione e strumenti amministrativi disponibili. Inoltre, per ogni centro partecipante si deve valutare la fattibilità dello studio rispetto a ostacoli di carattere sociale o culturale.

#### **Protocollo di studio e cronogramma**

Il protocollo di studio deve essere preparato dal coordinatore dello studio multicentrico e inviato a tutti i gruppi partecipanti, prima dell'incontro previsto per la sua discussione. Durante l'incontro è possibile apportare le modifiche necessarie e ottenere l'approvazione dei gruppi partecipanti. Il protocollo deve essere lo stesso per tutti i gruppi, ma condizioni di carattere socio-culturali o politiche possono suggerire qualche modifica nell'approccio per un gruppo particolare. Tuttavia, i risultati ottenuti devono poter essere confrontabili.

Il cronogramma di ogni gruppo deve essere coordinato a livello centrale, ma non è necessario che tutti i gruppi eseguano la stessa attività nello stesso momento. Differenze stagionali del clima comportano l'esecuzione dello studio in periodi diversi in paesi diversi, per garantire che le condizioni climatiche siano simili in tutti i casi.

Il protocollo dello studio deve specificare i metodi da seguire e le modalità di pubblicazione e divulgazione dei risultati. In particolare, è necessario stabilire se e in quali casi un singolo centro può pubblicare i propri risultati, come riconoscere il contributo dell'intero gruppo di ricerca e le modalità del processo di revisione.

#### **Procedure organizzative e di campionatura**

Anche se il personale di ogni centro è altamente qualificato, sarà necessario un addestramento comune sui metodi di standardizzazione. Idealmente, il personale chiave di ogni centro è addestrato in gruppo in una sede centrale. L'addestramento di personale locale deve basarsi su metodologie e materiali standard e per ogni gruppo di addetti alla ricerca sul campo sono predisposte istruzioni dettagliate, eventualmente tradotte.

Affinché i risultati siano confrontabili, in via di principio i centri devono seguire lo stesso metodo. Le condizioni locali possono tuttavia richiedere l'impiego di metodi diversi da paese a paese. In questo caso, il numero di soluzioni locali deve essere quanto più possibile contenuto. Ogni modifica del protocollo deve essere valutata dal coordinatore, per prevedere i possibili effetti della stessa sui risultati dello studio. Tutte le modifiche devono essere descritte in dettaglio nel protocollo.

Il gruppo di studio deve sviluppare e concordare uno schema generale di campionamento onde ridurre al minimo gli errori, in particolar modo nel caso di studi collaborativi basati sulla popolazione generale. È necessario decidere se eseguire un'analisi separata per ogni centro e se debbano essere investigate le differenze tra risultati dei singoli centri. Se è prevista un'analisi separata aggiuntiva dei risultati, ogni centro deve selezionare un campione di dimensioni sufficienti.

#### **Standardizzazione degli strumenti e dei metodi utilizzati per lo studio**

I questionari, gli strumenti e le attrezzature da campo o il laboratorio usati in studi multicentrici devono essere standardizzati per consentire il confronto tra i risultati. I questionari usati in studi internazionali devono essere tradotti per garantire un equivalente semantico del contenuto. Differenze linguistiche, livelli di alfabetizzazione, livello di istruzione e differenze culturali sono fattori da tenere presenti nella traduzione. La correttezza di una traduzione può essere verificata traducendo il testo nella lingua di partenza. Tuttavia, una traduzione esatta dei termini non è sempre possibile (Osterman *et al.*, 1990) e in questo caso i medici e i portavoce della popolazione cercano un accordo. Per superare problemi di traduzione, è possibile usare un video per dimostrare i sintomi e le situazioni che

possono essere di difficile comprensione (ad esempio, nell'International Study on Asthma, il "respiro sibilante" è dimostrato da un bambino). Il questionario tradotto deve essere controllato in fase preliminare prima di essere ultimato e riprodotto.

Ogni centro o paese partecipante deve usare gli stessi strumenti e metodi di misurazione. Se ciò non fosse possibile, è necessario eseguire una valutazione della comparabilità, affidabilità e validità delle attrezzature e dei metodi usati. Lo studio pilota può prevedere un controllo incrociato ed una calibratura di verifica.

È necessario preparare un programma di garanzia della qualità che deve essere approvato da tutti i paesi partecipanti. Il programma deve includere le procedure per la standardizzazione del campionamento e delle analisi, lo sviluppo di criteri di accettazione dei risultati analitici e un controllo della garanzia della qualità dell'analisi dei campioni.

#### **Gestione e analisi dei dati**

Per facilitare l'analisi comune dei dati raccolti, i files contenenti i dati creati dai singoli centri devono essere facilmente collegabili e scambiabili. Per ottenere ciò, è necessario uniformare hardware e software a disposizione dei centri, formato di input/output dei dati e metodi di analisi. Due fattori fra quelli da considerare di rilevanza sono il tipo di procedure statistiche da seguire e la definizione delle unità o delle categorie delle variabili qualitative.

## 9 VALUTAZIONE CRITICA DELLA LETTERATURA IN EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE

### ***Obbiettivi didattici***

- Comprendere l'utilità di valutare attentamente e in modo sistematico gli studi di epidemiologia ambientale.
- Acquisire le abilità necessarie a valutare criticamente le sezioni introduzione, metodi, risultati e discussione di un articolo scientifico concernente uno studio epidemiologico.
- Comprendere il ruolo, i metodi e i limiti degli studi metanalitici come strumento per riassumere le conoscenze scientifiche.

### ***9.1 Motivazioni per la valutazione critica della letteratura scientifica***

Molte ragioni giustificano l'elaborazione di uno strumento per la valutazione critica degli studi di epidemiologia ambientale. In primo luogo, la valutazione critica costituisce il migliore strumento utilizzabile per determinare in modo obiettivo lo stato delle conoscenze su un problema di salute legato all'ambiente. In secondo luogo, essa aiuta a stabilire se sia necessario pianificare uno studio epidemiologico per chiarire un determinato quesito e quale disegno dello studio sia più adatto a tale scopo. In terzo luogo, offre gli strumenti per riconoscere gli studi validi e distinguerli da quelli meno validi, caratterizzati cioè da troppi limitazioni, perché da essi si possano trarre conclusioni di inferenza causale o prendere decisioni di sanità pubblica.

I rapidi progressi che hanno recentemente coinvolto le tecnologie di comunicazione hanno ampiamente allargato le possibilità di accesso a grandi quantità di informazioni utili per l'epidemiologo ambientale. La disponibilità di fonti informatizzate per il recupero della bibliografia e lo sviluppo della rete Internet hanno facilitato l'accesso ad un vasto repertorio di pubblicazioni ambientali e mediche, che precedentemente erano disponibili soltanto in formato cartaceo, e spesso ad elevati costi. Tra esse sono incluse riviste scientifiche, newsletter di varie organizzazioni e comunicazioni informali tra professionisti di ambito medico e ambientale, come ad esempio nella rete GEENET (vedi Capitolo 12). L'accesso a questo tipo di informazioni sta inoltre diventando realmente "globale": i professionisti dei paesi in via di sviluppo stanno infatti raggiungendo livelli di accesso a tali risorse paragonabili ai professionisti dei paesi economicamente più sviluppati. Questi progressi, ed i potenziali benefici da essi derivanti, saranno trattati più ampiamente nel Capitolo 12. Uno svantaggio del rapido moltiplicarsi delle informazioni accessibili risiede tuttavia nella difficoltà di discriminare tra informazioni di buona qualità scientifica ed informazioni di scarsa qualità scientifica. Pericolosa tentazione, a questo proposito, sarebbe il considerare attendibile qualsiasi informazione "pubblicata" su Internet: al materiale reso disponibile in rete non è infatti usualmente fornita una significativa revisione da parte di esperti.

Questo capitolo presenta un metodo sistematico per valutare criticamente report o pubblicazioni relative a studi epidemiologici. Applicando questo metodo, e in base alla validità interna dello studio e alle caratteristiche della popolazione partecipante, il lettore dovrebbe essere in grado di concludere se i risultati dello studio siano rilevanti per una determinata realtà locale. La metodologia raccomandata per effettuare revisioni critiche di letteratura è stata discussa in un altro capitolo di questo libro e il lettore dovrebbe dunque avere familiarità con essa. A questo proposito, è di seguito proposta una guida alla valutazione dell'adequatezza della metodologia utilizzata per estrarre il campione, ma l'estrazione del campione in sé è stata già discussa nei capitoli 3 e 6. Esaminando il presente capitolo, dunque, il lettore potrebbe aver bisogno di cercare riferimenti in precedenti capitoli (principalmente i Capitoli 3-7), cui si rimanda. E' comunque raccomandato il testo di Gehlbach (1988) come riferimento per la valutazione sistematica della letteratura medico-scientifica.

## 9.2 Scale numeriche proposte per valutare l'adeguatezza di un articolo scientifico

Giudicare la validità di un articolo scientifico utilizzando un sistema numerico arbitrario è una pratica talvolta non necessaria, in quanto spesso è sufficiente una valutazione generale meno strutturata. Ciò nonostante, checklist e scale numeriche possono essere un mezzo utile per conservare traccia delle valutazioni effettuate e per riassumerne le conclusioni. Un approccio numerico può anche essere d'aiuto nel definire opinioni e nel comunicarle a coloro che richiedono l'interpretazione dei risultati di uno studio, ad esempio rappresentanti del governo o gruppi di cittadini.

Chi utilizza un sistema numerico dovrebbe essere comunque conscio del fatto che dovrà classificare con un punteggio le caratteristiche metodologiche di uno studio, pur restando in qualche modo ambiguo nelle valutazioni specifiche.

### Box 9.1 Sistema numerico per classificare le caratteristiche di un articolo scientifico

- "1" La caratteristica in studio **soddisfa** il suo specifico obiettivo. Gli standard scientifici utilizzati sono in generale accettabili. Non c'è motivo per sospettare che i risultati osservati differiscano dalla sottostante "verità" a causa di questa specifica caratteristica.
- "2" L'adeguatezza della caratteristica in studio è **limitata o incerta**. Nonostante ciò, l'approccio dell'autore e la presentazione non sono errati, né violano standard scientifici. Per quanto riguarda la caratteristica in esame, è probabile che i risultati osservati riflettano la verità. Tuttavia, bias o errori non possono essere esclusi.
- "3" La caratteristica in studio non è adeguata o è **scarsamente adeguata** rispetto al suo specifico obiettivo. Residuano pertanto significativi dubbi sul fatto che i risultati osservati corrispondano effettivamente alla sottostante "verità".

Il Box 9.1 presenta una scala ordinale a tre punteggi, come esempio di sistema numerico utilizzabile per classificare le caratteristiche (altrimenti dette "attributi") di un articolo scientifico (ad esempio: presentazione della metodologia dello studio, risultati, discussione). Qualora ritenute adatte, opportune modifiche possono essere apportate al sistema. Dopo aver valutato le caratteristiche in studio in base alla scala numerica, un punteggio finale può essere calcolato come media dei punteggi ottenuti dalle singole caratteristiche (metodo quantitativo), oppure con una stima qualitativa delle caratteristiche giudicate positivamente, oppure con altri metodi.

È improbabile che lo stesso articolo, valutato da differenti individui, ottenga esattamente la stessa valutazione. Le valutazioni differiscono generalmente a seconda della formazione professionale, dell'esperienza e delle opinioni personali del valutatore. Nonostante ciò, valutazioni effettuate in modo sistematico da personale adeguatamente formato dovrebbero in generale raggiungere il medesimo risultato. Valutazioni non pienamente concordanti non costituiscono necessariamente un problema, soprattutto quando sono rese esplicite le singole motivazioni alla base del giudizio di adeguatezza o inadeguatezza delle caratteristiche in esame.

## 9.3 Valutazione critica della relazione (articolo scientifico) di uno studio

### Introduzione

Nell'introduzione all'articolo gli autori dovrebbero presentare un conciso riassunto sullo stato delle conoscenze riguardanti il problema in esame. Ad esempio, dovrebbero fornire brevi cenni sulle caratteristiche del rischio ambientale, sulle patologie in studio, sul potenziale impatto per la popolazione locale. Al lettore dovrebbero essere fornite informazioni sufficienti per comprendere le motivazioni alla base dello studio ed il contributo atteso dello studio alle conoscenze specifiche su un determinato problema di salute legato all'ambiente.

### Revisione della letteratura

Nella revisione della letteratura, gli autori dovrebbero fornire un aggiornato ed esaustivo quadro delle

conoscenze relative all'argomento in studio, includendo tutte le questioni problematiche e quelle fino ad allora rimaste irrisolte. Nel caso in cui riportino i risultati di uno studio epidemiologico, dovrebbero riassumere e citare i precedenti studi sullo stesso tema. Il sunto dovrebbe essere bilanciato, riportando sia i risultati concordanti, sia quelli discordanti rispetto a quelli da loro ottenuti. Dovrebbero essere menzionati anche studi collegati all'argomento ma facenti parte di altre discipline, per esempio tossicologia, ingegneria, biochimica, immunologia, genetica; la revisione della letteratura di discipline collegate può infatti aiutare a motivare più ampiamente lo svolgimento dello studio. Il lettore dovrebbe infatti poter valutare se la revisione di letteratura presentata dagli autori fornisca sufficienti motivazioni per la conduzione dello studio.

#### **Motivazioni (razionali) alla base dello studio**

Il lettore dovrebbe giudicare se il ragionamento alla base degli obiettivi o delle ipotesi dello studio sia stato chiaramente descritto. In breve, date le informazioni introduttive e la rassegna della letteratura, gli autori hanno prodotto argomenti convincenti per giustificare lo studio quale passo logico utile per chiarire questo problema di salute? Molti studi epidemiologici su problemi di salute legati all'ambiente si basano su analisi secondarie di dati raccolti per ragioni non correlate allo specifico problema in esame. Da un certo punto di vista, non è errato esplorare dati già disponibili per nuovi e stimolanti propositi; in tal caso, tuttavia, gli autori dovrebbero chiaramente esplicitare se le motivazioni alla base dello studio abbiano portato a raccogliere nuovi dati, o se viceversa i dati esistenti abbiano condotto allo sviluppo di ipotesi ausiliarie.

#### **Ipotesi e obiettivi**

Ogni studio di epidemiologia ambientale dovrebbe contenere obiettivi generali legati alla promozione della salute pubblica e obiettivi specifici, più strettamente definiti. La valutazione della sezione dell'articolo scientifico all'interno della quale essi sono contenuti dovrebbe essere espressa in base alla chiarezza e alla precisione delle principali ipotesi, o degli obiettivi dichiarati come principali. Questa sezione contiene di solito poche frasi. Tuttavia queste frasi sono tra le più importanti dell'articolo in quanto dovrebbero mettere il lettore nelle condizioni di comprendere i motivi per cui gli autori hanno scelto una determinata metodologia di studio, ed eventualmente i motivi per cui i dati sono stati raccolti in un determinato modo; inoltre, dovrebbero fornire il contesto per l'interpretazione dei risultati. Studi caratterizzati da obiettivi mal costruiti o scarsamente motivati non riescono generalmente a produrre risultati chiarificatori.

#### **Metodi**

##### **Disegno dello studio**

La valutazione critica della metodologia utilizzata per la conduzione dello studio dovrebbe esaminare le seguenti rilevanti caratteristiche:

- **approccio generale:** lo studio era disegnato con propositi descrittivi o analitici (per esempio: prendeva in considerazione un'ipotesi eziologica)? In virtù del disegno dello studio e della metodologia adottata, aveva le potenzialità per raggiungere conclusioni sul problema in esame?
- **livello di raccolta dei dati:** i dati erano raccolti a livello individuale o di popolazione?
- **disegno dello studio:** il disegno dello studio era chiaramente esplicitato (coorte storica, caso-controllo, trasversale, sperimentale ecc.)?

##### **Popolazione a rischio**

Al lettore dovrebbe essere fornita una esaustiva descrizione della popolazione partecipante allo studio e della popolazione da cui il campione in studio è stato estratto (popolazione a rischio). Una esaustiva descrizione aiuterà il lettore a decidere se i risultati dello studio possano essere applicati ad altri gruppi di popolazione. La "generalizzabilità" dei risultati è anche chiamata "validità esterna" dello studio. La premessa alla base della validità esterna è che se un quesito di ricerca è importante, verrà studiato ripetutamente su diverse popolazioni per valutare se esista un'analogia di effetto. Tuttavia, in epidemiologia ambientale ripetere gli studi in differenti contesti o su diverse popolazioni è

spesso costoso, difficile e talvolta impossibile da realizzare. Stabilire se l'associazione riportata da uno studio è valida, e se i risultati dello studio si possano considerare applicabili ad un differente contesto, può dunque avere importanti conseguenze in termini di salute pubblica, dal momento che quei risultati possono costituire l'unico elemento sul quale basare decisioni di sanità pubblica.

#### **Metodi di campionamento e grandezza del campione**

Il lettore dovrebbe valutare se la metodologia utilizzata per l'estrazione del campione (popolazione in studio) dalla popolazione sorgente (popolazione a rischio) sia valida. Questa valutazione può essere condotta rispondendo ad esempio alle seguenti domande:

- la metodologia di estrazione del campione è chiaramente descritta?
- la numerosità del campione estratto è sufficiente per studiare le ipotesi predefinite?

#### **Criteri di inclusione ed esclusione della popolazione in studio**

Il lettore dovrebbe valutare l'adeguatezza dei criteri utilizzati per l'estrazione del campione dalla popolazione sorgente. Erano presenti criteri per escludere una parte dei soggetti dall'analisi statistica? Gli autori spesso non esplicitano abbastanza chiaramente i criteri alla base di tali decisioni (inclusione, esclusione). Questo può determinare incongruenze (ad es. il totale dei soggetti in una tabella non corrisponde ai dati presentati in altre tabelle o nel testo), producendo confusione nel lettore ed ulteriori disattenzioni in aree metodologiche a questa correlate.

#### **Criteri di inclusione ed esclusione del gruppo di controllo o di confronto**

Un gruppo di controllo o di confronto è necessario in quasi tutti gli studi epidemiologici. La popolazione sorgente e la modalità di estrazione del gruppo di controllo possono influenzare la validità dello studio. Il lettore dovrebbe valutare le modalità di selezione e ogni criterio di restrizione usato dagli autori per selezionare il campione. La valutazione di questi elementi e del metodo utilizzato per selezionare i soggetti in studio forniranno un'indicazione sulla presenza di bias di selezione.

#### **Misurazione dell'esposizione e degli esiti sanitari**

Il lettore dovrebbe valutare se le esposizioni e gli esiti sanitari siano stati adeguatamente definiti e misurati. Ci si dovrebbe assicurare che tutte le fonti di misclassificazione, la direzione (verso o lontano dallo zero) e la tipologia delle potenziali misclassificazioni (casuali o sistematiche) siano state adeguatamente descritte. Il lettore dovrebbe anche valutare se, alla luce delle ipotesi in studio, l'esposizione e gli esiti sanitari siano sufficientemente dettagliati e definiti.

#### **Trattamento dei potenziali confondenti o modificatori di effetto**

Il lettore potrebbe ritenere utile stilare una lista dei possibili fattori confondenti e dei modificatori d'effetto, includendo sia quelli menzionati dagli autori, sia altri che egli consideri plausibili o importanti. I potenziali fattori confondenti possono essere raggruppati in tre categorie:

- fattori controllati con il disegno dello studio (per esempio mediante appaiamento, randomizzazione, restrizione)
- fattori controllati in fase di analisi
- fattori non controllati

#### **Bias di informazione**

Il lettore dovrebbe giudicare se i ricercatori siano stati efficaci nel prevenire o nel ridurre il rischio di bias di informazione. Ad esempio, le informazioni sui soggetti esposti e non esposti al fattore in studio erano raccolte dagli stessi intervistatori o da intervistatori differenti? Gli intervistatori erano consci dello stato di esposizione degli individui che intervistavano? La valutazione dello stato di salute era effettuata in modo "cieco"? Nel caso in cui il lettore sospettasse la presenza di bias di informazione, dovrebbe cercare di stimare la direzione di tale bias (per esempio: relativamente all'effetto osservato, è più probabile che l'effetto reale si avvicini o si allontani dal valore nullo?). Stimare l'entità del bias (per esempio quanto è distante il valore stimato dal valore reale), a partire dalla stima osservata, è più complicato.

### **Analisi statistica**

Il lettore dovrebbe valutare quanto i metodi di analisi statistica utilizzati siano appropriati e se siano stati chiaramente descritti. E' molto importante valutare se sono presenti gli intervalli di confidenza di tutte le variabili in studio; questo fornisce infatti una stima della precisione dei risultati ottenuti. Tenendo conto degli intervalli di confidenza, il lettore dovrebbe anche valutare se lo studio abbia potenza sufficiente per rilevare associazioni significative ai fini degli obiettivi e delle ipotesi predefinite.

### **Risultati dello studio**

#### **Principali risultati**

Il lettore dovrebbe verificare che i risultati dello studio siano stati riassunti in modo obiettivo in termini di grandezza e direzione degli effetti ipotizzati. Dovrebbe anche domandarsi se lo studio abbia fornito altri risultati potenzialmente importanti, che non siano stati adeguatamente evidenziati e discussi dagli autori. È altresì importante che i risultati negativi siano messi in evidenza al pari dei risultati positivi, e che gli autori confrontino i loro risultati con quelli di studi precedentemente pubblicati cercando di motivare le eventuali discordanze.

È inoltre importante osservare con attenzione tabelle e figure per comprendere i dati presentati. Il testo infatti presenta generalmente soltanto il riassunto dei risultati e le interpretazioni elaborate dagli autori. Il lettore dovrebbe in realtà elaborare una propria interpretazione dei dati e valutare se questa concordi o discordi con quella fornita dagli autori.

#### **Dati mancanti**

I risultati dovrebbero essere attentamente valutati in relazione ai tassi di risposta ottenuti dai partecipanti allo studio, al numero di ritirati o persi al follow-up, alla compliance dei partecipanti, o ad altre tipologie di dati mancanti. Dovrebbero essere valutate le modalità con cui queste problematiche sono state affrontate e si dovrebbe stabilire se sussistano altri problemi relativi ai dati, che gli autori non abbiano preso in considerazione.

#### **Controllo del confondimento**

Dovrebbe essere esaminato un certo numero di problematiche relative al controllo del confondimento. Per esempio, i possibili fattori confondenti precedentemente identificati sono stati tenuti adeguatamente in considerazione durante lo studio? Qual è la probabilità che sia presente del confondimento residuo, come risultato di procedure di aggiustamento incomplete? Se il rischio di confondimento rimane, quanto è probabile che le stime di effetto riportate risultino significativamente compromesse?

### **Discussione e conclusioni**

#### **Validità interna**

Il giudizio sulla validità interna di uno studio richiede la sintesi delle valutazioni effettuate dal lettore sulle singole caratteristiche dello studio. Se le caratteristiche/attributi esaminati ottengono giudizi favorevoli, è probabile che il lettore giunga infine a trarre dallo studio le stesse conclusioni tratte dagli autori. Egli dovrebbe tuttavia valutare se gli autori abbiano sufficientemente esaminato spiegazioni alternative (per esempio altri meccanismi biologici, errori sistematici, errori di campionamento ecc.) che potrebbero in qualche modo giustificare i risultati ottenuti, e quali ulteriori interpretazioni dei risultati possano essere fornite dallo studio in questione o da studi futuri. Il lettore deve inoltre decidere se la plausibilità di queste interpretazioni alternative sia tale da mettere a rischio la validità interna dello studio.

#### **Validità esterna**

Determinare se i risultati di uno studio epidemiologico hanno validità esterna (e cioè se possono essere generalizzati o estrapolati, e in caso affermativo, a quali popolazioni) è appropriato solo se si ritiene che lo studio possieda validità interna. In epidemiologia ambientale, l'estrapolazione dei risultati dello studio realizzato in un certo ambito per applicarli ad un ambito diverso costituisce un problema di notevole entità. Chi ha potere decisionale nelle politiche di governo è infatti general-

mente riluttante a modificare i percorsi gestionali della sanità pubblica, a meno che sia stata chiaramente dimostrata l'esistenza di un problema di salute nel Paese o nella regione esaminata. Per giustificare tali modifiche sarebbe, apparentemente, necessario ripetere lo studio. Tuttavia, nel caso in cui la validità esterna dello studio sia giudicata positivamente e questo venga comunicato in modo efficace, la ripetizione dello studio può essere evitata.

#### **Coerenza con i risultati di altri studi**

Si dovrebbe valutare se gli autori abbiano confrontato i loro risultati con quelli di studi precedenti. Per esempio, i risultati sono consistenti o inconsistenti con la letteratura, e possono essere spiegati da meccanismi biologici convincenti e plausibili? Se non lo sono, si dovrebbe stabilire se questo sia dovuto al fatto che i risultati sono tanto innovativi da non essere stati ancora adeguatamente studiati dalle altre discipline coinvolte, o se piuttosto è improbabile che tali risultati corrispondano alla verità.

#### **Importanza pratica dei risultati ottenuti**

L'importanza pratica dei risultati dello studio può essere valutata ponendosi le seguenti domande: i risultati aggiungono qualcosa alle attuali conoscenze riguardanti il problema in studio? In che modo potrebbero avere conseguenze sulla salute pubblica? In seguito ai risultati dello studio, gli individui o le istituzioni dovrebbero modificare il loro modo di agire?

#### **Ulteriori studi raccomandati**

Generalmente gli autori al termine dell'articolo suggeriscono la direzione per nuove ricerche riguardanti l'argomento in studio. Inoltre, i lettori potrebbero essi stessi domandarsi se l'ambiente in cui vivono, o il contesto socio-politico in cui lavorano abbiano caratteristiche tali da essere presi in considerazione in studi futuri sullo stesso argomento. Uno studio che identifichi i composti organici volatili assunti tramite il consumo di acqua potabile quali causa di anomalie di sviluppo fetale, potrebbe, ad esempio, richiedere studi di follow-up per determinare le specifiche reti di approvvigionamento idrico nelle popolazioni locali implicate e, allo stesso modo, potrebbe richiedere la completa caratterizzazione dei livelli e dei tipi di composti trovati.

### **9.4 Sistemi alternativi di valutazione della letteratura**

Il sistema di valutazione dell'articolo/report relativo ad uno studio epidemiologico descritto in questo capitolo è caratterizzato da due tipi di attività. La prima consiste nel definire la scala quantitativa o qualitativa da utilizzare durante la valutazione delle sezioni dell'articolo; la seconda consiste nel categorizzare le caratteristiche/attributi specifici dell'articolo che dovranno essere esaminati. I metodi proposti in questo capitolo possono essere modificati a seconda delle preferenze individuali di chi effettua la valutazione. La raccomandazione principale, tuttavia, è che la metodologia utilizzata sia sistematica e standardizzata. Un esempio è presente nella Tabella 9.1: è la griglia di valutazione utilizzata nell'articolo di revisione della letteratura sugli effetti dei bifenili policlorinati (PCBs) sulla salute (Swanson *et al*, 1995).

In questo articolo, il sistema di classificazione era basato su una scala a due punti ("+" soddisfacente, "-" non soddisfacente). Le caratteristiche prese in esame erano in minor numero ed avevano carattere più generale rispetto a quelle da noi proposte in questo capitolo. Questo sistema di valutazione, e quelli ad esso analoghi, non dovrebbe assegnare punteggi di qualità basati sugli specifici risultati dello studio. Uno studio che non produca risultati significativi possiede infatti lo stesso valore intrinseco di uno studio ad esso comparabile che produca risultati significativi. È essenziale rimanere neutrali ed obiettivi nei confronti degli esiti di salute misurati negli studi di epidemiologia ambientale.

Una delle principali conclusioni dell'articolo di revisione sugli effetti dei PCBs era che la metodologia utilizzata negli studi esaminati e la descrizione di tale metodologia mostravano grossi limiti. Il 70% degli studi revisionati furono infatti classificati come "inconclusivi", caratterizzati cioè dalla presenza di una o più serie limitazioni. Inoltre, le conclusioni degli autori furono valutate compatibili con i risultati dello studio soltanto nel 56% degli studi ambientali e nel 69% degli studi occupazionali.



**Tabella 9.1 Effetti del PCB sulla salute - revisione analitica di letteratura**

Principali caratteristiche in studio e criteri di valutazione

<b>(D) Disegno dello studio</b>	<b>(AFRC) L'analisi include altri fattori di rischio critici</b>
+ Studio di coorte; studio caso-controllo - Studio di casi; studio di sola esposizione; studio descrittivo	+ Si - No 0 Non riportato
<b>(S) Selezione dei soggetti</b>	<b>(RS) Valutazione dei risultati dello studio</b>
+ Bias improbabili - Bias probabili 0 Non riportato	+ Presentati in modo chiaro, tenuti in conto punti di forza e limitazioni - Manca coerenza nell'organizzazione o nella presentazione 0 Non chiari o ambigui
<b>(R) Tasso di risposta</b>	<b>(C) Le conclusioni degli autori sono compatibili con i risultati</b>
+ $\geq 75\%$ - $\leq 74\%$	+ Si - No
<b>(E) Esposizione</b>	<b>(V) Valutazione complessiva in termini di effetti sulla salute umana</b>
+ Misurata - Non misurata	+ Conclusioni chiare, si escludono importanti difetti metodologici - Risultati limitati, sospetti difetti metodologici 0 Inconclusivo: lo studio possiede difetti metodologici, gli autori non riportano dettagli importanti
<b>(AS) Analisi statistica</b>	
+ Appropriata - Non appropriata, non effettuata 0 Non riportata	

Fonte: adattato da Swanson et al., 1995

## 9.5 Riassumere la letteratura attraverso le metanalisi

La **metanalisi** è l'analisi quantitativa dei risultati combinati di molti studi ed ha lo scopo di fornire una misura riassuntiva delle conoscenze scientifiche su uno specifico argomento. Per quanto riguarda l'epidemiologia ambientale, la metanalisi possiede due fondamentali vantaggi rispetto alle revisioni di letteratura non quantitative. Prima di tutto, fornisce un'unica stima che è la media dei risultati dei singoli studi, e questo elimina la confusione creata dal dover interpretare molteplici studi che presentano risultati differenti in termini di grandezza ed addirittura direzione della stima di effetto osservata. In secondo luogo, la metanalisi possiede maggiore potenza statistica in quanto i singoli studi inclusi sono combinati a costituire una popolazione unica.

Lo studio metanalitico ha le sue radici nella ricerca clinica randomizzata nella quale per determinare l'efficacia di un farmaco o di una tecnologia sono utilizzate metodologie di sperimentazione molto simili, o standardizzate (per esempio: criteri diagnostici standardizzati, randomizzazione dei trattamenti, valutazione degli esiti di salute in doppio cieco). Nell'ambito degli studi clinici, se risultati di

studi già pubblicati suggeriscono l'efficacia di un nuovo farmaco, considerazioni etiche indurrebbero probabilmente a non effettuare successive valutazioni cliniche randomizzate; questo per il fatto che ad alcuni pazienti sarebbe assegnato in modo randomizzato un placebo o un trattamento probabilmente meno efficace di quello in studio. In questo contesto, la metanalisi fornisce la stima sintetica e l'interpretazione complessiva dei risultati fino a quel momento disponibili; tali elaborazioni possono a loro volta essere utilizzate per guidare i processi clinico-decisionali. Esistono numerosi testi che revisionano l'applicazione della metodologia metanalitica negli studi clinici (vedi, per esempio, Chalmers *et al.*, 1981; DerSimonian & Laird, 1986; Simes, 1986).

Le metanalisi di studi epidemiologici osservazionali, quali studi caso-controllo e studi di coorte, sono più problematiche di quelle di studi sperimentali, quali clinical trials, poiché gli studi osservazionali non adottano approcci uniformi per la raccolta dei dati, la definizione di caso, i criteri di selezione dei soggetti, la definizione ed il controllo del confondimento ecc. Nonostante ciò, tecniche metanalitiche sono spesso utilizzate per riassumere e pesare i risultati degli studi osservazionali riguardanti specifici problemi di salute legati all'ambiente.

In epidemiologia ambientale, la metanalisi può assumere la forma di revisione di letteratura sullo "stato dell'arte" riguardante un determinato argomento (Dickersin & Berlin, 1992). L'approccio quantitativo metanalitico dovrebbe condurre ad una integrazione dei risultati più obiettiva di quella effettuata con la "revisione" da parte di un solo esperto: in tal modo, infatti, si rimuove il rischio di interpretazione soggettiva. La metanalisi può anche servire come primo passo logico quando si proponga un nuovo progetto di ricerca, specialmente nel caso in cui si richieda un finanziamento esterno. Fornire una misura pesata delle conoscenze esistenti può essere infatti necessario per ottenere il consenso per la pianificazione di un nuovo studio. L'esito sanitario identificato dalla metanalisi può inoltre aiutare ad individuare specifici argomenti o problemi che necessitino di ulteriore approfondimento e chiarificazione.

Tuttavia, le metanalisi possiedono anche delle limitazioni. Per questo motivo, alcuni epidemiologi considerano con scetticismo il vasto consenso e la diffusa promozione degli studi metanalitici (Goldman & Feinstein, 1979; Feinstein, 1989). Uno dei problemi maggiori è che, nel tentativo di raggiungere una stima centrale di rischio, la metanalisi trascura i vantaggi e gli svantaggi metodologici dei singoli studi. Unire semplicemente i risultati di studi inconclusivi in una singola analisi per produrre una stima media può non determinare un progresso nella comprensione di un problema di salute legato all'ambiente, anche se i limiti di confidenza possono diventare molto stretti (e quindi statisticamente significativi, *n.d.t.*).

Inoltre, la sensazione che gli editori delle riviste scientifiche siano più disponibili ad accettare per la pubblicazione studi significativi piuttosto che studi non significativi, anche quando questi ultimi siano di comparabile qualità, crea ulteriori problemi (Chalmers *et al.*, 1990; Dickersin, 1990). Se tale sensazione corrisponde alla verità, e chi effettua la metanalisi include in essa solo articoli già pubblicati, si produrrà un aumento del bias di pubblicazione verso le conclusioni positive. Alcuni ricercatori hanno tentato di provare che il bias di pubblicazione effettivamente esiste (Easterbrook *et al.*, 1991; Dickersin *et al.*, 1992), tuttavia in pratica la sua esistenza resta ancora dipendente dalla specifica rivista, dal periodo in studio, dall'argomento studiato. I metodi proposti per la valutazione e l'aggiustamento dei bias di pubblicazione nelle metanalisi potrebbero così rappresentare soltanto una soluzione improvvisata per correggere quello che potrebbe invece essere un serio ed incorreggibile bias (Rosenthal, 1979; Hetherington *et al.*, 1989).

### **Metodi metanalitici**

Esistono molteplici metodi statistici utilizzabili per produrre misure metanalitiche di sintesi degli studi epidemiologici. Una discussione dettagliata di come condurre una metanalisi va oltre gli scopi di questa presentazione, ma i passi iniziali della metanalisi sono di seguito sottolineati. Dettagli più specifici possono essere reperiti in letteratura (vedi, per esempio, Greenbland, 1987; Laird & Mosteller, 1990; Fleiss & Gross, 1991).

### **1 Identificare tutti gli studi rilevanti per il quesito in esame**

Una ricerca su MEDLINE (vedi Capitolo 12) o su un equivalente database, usando parole-chiave, è generalmente effettuata per identificare gli studi pubblicati riguardanti un determinato argomento. Generalmente viene usata anche la bibliografia citata all'interno degli articoli identificati e recuperati. Se si decide di includere nell'analisi studi non pubblicati, anche questi devono essere identificati e recuperati. Gli abstracts dei congressi e le raccomandazioni concernenti gli studi in corso possono essere esaminati e i contatti personali con i ricercatori attivi in un determinato ambito sono in questo caso preziosi. Gli studi non pubblicati e che non abbiano subito un processo di revisione tra pari costituiscono un importante dilemma per quanto riguarda la valutazione dei loro meriti scientifici. (Tuttavia, la pubblicazione suggerisce, quanto meno, che un articolo è stato sottoposto ad una valutazione di qualità esterna e che questa è stata giudicata soddisfacente).

### **2 Risolvere i problemi relativi alla qualità degli studi e alle eventuali inconsistenze nei risultati**

Poiché le differenze tra gli studi, per quanto riguarda la popolazione in studio e la metodologia utilizzata, possono determinare inconsistenze nei risultati, queste caratteristiche/attributi dovrebbero essere attentamente valutate per decidere quanto effettivamente pesino sulle inconsistenze stesse. Ogni studio la cui conduzione sia ritenuta non soddisfacente, dovrebbe essere escluso da un'eventuale metanalisi. I criteri utilizzati per giudicare uno studio soddisfacente oppure non soddisfacente devono essere adeguatamente descritti. È generalmente utile a questo proposito stabilire degli standard minimi di qualità prima di cominciare la metanalisi (per esempio il sistema di classificazione di qualità di Chalmers, 1981). Sfortunatamente non esistono criteri uniformi per definire cosa debba essere utilizzato come standard. In linea di principio, può essere ragionevole assegnare ad ogni studio un peso basato sulla qualità, tuttavia questo può essere difficile da attuare quando deve essere raggiunto il consenso sul valore dei singoli studi.

Se gli studi con risultati divergenti sono di qualità soddisfacente, la misura di sintesi metanalitica tenderà ad assumere una posizione "centrale" tra gli studi che divergono, ma quelli più grandi avranno un peso maggiore. Studi molto eterogenei tra di loro non dovrebbero infatti essere combinati, e per valutare quantitativamente l'eterogeneità sono stati proposti diversi metodi statistici (vedi, per esempio, Simon, 1987; Naylor, 1988).

### **3 Stabilire il peso dei singoli studi e calcolare stime di rischio pesate**

Generalmente, il peso assegnato ad uno studio è determinato dalla grandezza dello studio stesso. È un processo analogo all'analisi Mantel-Haenszel: il peso è proporzionale all'inverso della varianza stimata di ogni studio (Greenland & Salvan, 1990).

Sono disponibili tre metodi per calcolare la stima combinata di effetto: il metodo di Mantel-Haenszel, il metodo di Peto, il metodo basato sulla varianza generale. I primi due richiedono che i dati degli articoli pubblicati siano disponibili in tavole di contingenza (per esempio, tavole 2x2). Un vantaggio del terzo metodo è il fatto che richiede soltanto la stima di effetto e i relativi limiti di confidenza (Pettiti, 1997).

### **La metanalisi come strumento per l'elaborazione di politiche di igiene ambientale**

Nonostante le sopracitate limitazioni, la metanalisi è probabilmente destinata a rimanere una tecnica popolare per riassumere i risultati degli studi di epidemiologia ambientale, per combinare studi individuali che possiedano bassa potenza statistica, e per aiutare i ricercatori a raggiungere il consenso, quando i risultati degli studi siano divergenti o in conflitto gli uni con gli altri. Può essere anche un utile strumento per comunicare a chi elabora politiche, a chi decide l'allocazione dei finanziamenti, e ad altri, che determinati rischi ambientali sono reali e richiedono azioni preventive o correttive.

Infine, la limitata disponibilità di fondi destinati alla ricerca ambientale è un problema ampiamente

diffuso. Fornendo una misura sintetica sullo stato delle conoscenze epidemiologiche riguardanti uno specifico problema, la metanalisi può aiutare ad evitare il proliferare di nuovi e costosi progetti di ricerca, laddove non siano necessari. Ci si augura, invece, che tali finanziamenti possano essere destinati ad appoggiare altre iniziative ed interventi importanti.

### **Commenti conclusivi**

La ricerca in epidemiologia ambientale sta rapidamente proliferando. Nuove riviste scientifiche in formato cartaceo ed altre in formato elettronico stanno emergendo in risposta all'impellente bisogno di divulgazione dei risultati. Ma se da un lato appare esagerato e non necessario leggere tutti gli articoli scientifici di recente pubblicazione per mantenersi aggiornati sugli sviluppi della ricerca, dall'altro tuttavia la passiva accettazione dei risultati degli studi così come riassunti negli abstracts degli articoli può determinare una superficiale comprensione delle complesse relazioni esistenti tra ambiente e salute. I ricercatori che si occupano di epidemiologia ambientale dovrebbero cercare di mantenersi aggiornati nei confronti degli argomenti che più li interessano, e valutare con occhio critico le nuove scoperte. Questo non significa che i piccoli difetti intrinseci ad ogni studio siano sufficienti a mettere in discussione la validità di studi di buona qualità generale; adottare una posizione eccessivamente critica è infatti sempre controproducente: in tal caso il rischio sarebbe di scartare risultati utili insieme a quelli di studi realmente limitati. Infatti, è riconosciuto da ricercatori di grande esperienza che piccoli difetti nei dati ed anche nella metodologia non invalidano generalmente i risultati di uno studio epidemiologico. Inoltre, poiché l'epidemiologia ambientale probabilmente rimarrà una disciplina difficile, caratterizzata da una serie di limitazioni intrinseche, sarebbe utile che imparassimo a distinguere, in modo efficiente ed accurato, studi validi da studi meno validi. Fortunatamente, la valutazione di questo tipo di letteratura è di solito una piacevole responsabilità, e nel caso in cui sia effettuata in modo attento e sistematico, conduce il lettore ad una più profonda comprensione dell'epidemiologia ambientale.

## 10 L'EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE NELL'ATTIVITÀ DELLA SANITÀ PUBBLICA

### **Obbiettivi didattici**

- Comprendere come l'epidemiologia è usata nei programmi di sanità pubblica per valutare i rischi ambientali e preparare le risposte della sanità pubblica.
- Descrivere i principali scopi e i componenti della sorveglianza della salute pubblica e i programmi di monitoraggio ambientale.
- Descrivere i passaggi nella conduzione di un'indagine in caso di epidemia.
- Essere a conoscenza dei processi di “valutazione della salute pubblica” per valutare i dati e l'informazione per comunità potenzialmente esposte a rischi ambientali.
- Comprendere l'importanza di una comunicazione efficace con i soggetti pubblici e le comunità.

I precedenti capitoli di questo libro hanno presentato i principi e i metodi di conduzione di studi epidemiologici ambientali. I rimanenti capitoli esaminano l'uso dell'epidemiologia ambientale nella attività della sanità pubblica (per quel che riguarda il monitoraggio, la sorveglianza, le indagini epidemiche e i clusters di malattia) e il suo ruolo nella politica pubblica o nell'ambito decisionale (in relazione alla valutazione del rischio, allo stabilire standard, alla valutazione dell'impatto ambientale e alla scelta delle decisioni).

### **10.1 Monitoraggio dell'esposizione e sorveglianza della salute**

#### **Principi base**

Il Centers for Disease Control (CDC) degli Stati Uniti definisce “sorveglianza della salute pubblica” come la continua, sistematica raccolta, analisi e interpretazione di dati sulla salute, fondamentali per progettare, effettuare e valutare la attività di sanità pubblica, strettamente integrata con l'opportuna diffusione di questi dati agli individui o istituzioni appropriati. Più semplicemente, un sistema di sorveglianza raccoglie, analizza e distribuisce dati (CDC, 1988).

Il concetto di sorveglianza in sanità pubblica è evoluto nel tempo e può essere confuso con altri usi dello stesso termine. Pertanto l'attuale concetto di sorveglianza, come il monitoraggio di malattie o dei fattori di rischio nelle **popolazioni**, è piuttosto differente dalla stretta osservazione di **individui** che sono stati esposti a un agente infettivo o tossico, eseguita con il fine di scoprire i sintomi precoci e istituire sollecite misure di controllo. Quest'ultima è ora riferita come “sorveglianza medica”, mentre il termine “sorveglianza” è generalmente preso a significare sorveglianza della salute pubblica. Molti sistemi di sorveglianza sono stati inizialmente approntati per monitorare la presenza di malattie trasmissibili e poi, in seguito allo sviluppo industriale, sono stati estesi a includere altre malattie, il monitoraggio ambientale e la sorveglianza di fattori di rischio conosciuti, come il fumare e l'uso di droghe.

Gli scopi della sorveglianza in sanità pubblica sono:

- identificare o confermare l'esistenza di un problema di salute pubblica;
- definire la portata del problema;
- identificare e definire con precisione le popolazioni per la prevenzione e l'intervento;
- valutare l'efficacia del programma di intervento o di prevenzione.

La sorveglianza può anche identificare le aree per ulteriori ricerche epidemiologiche e, più importante, agire da “sentinella” per problemi emergenti. Un evento “sentinella” è il manifestarsi di un caso di malattia o di un andamento di malattia che indichi la necessità di una indagine di sanità pubblica e quel che ne consegue.

La **sorveglianza nel campo dell'igiene ambientale** comprende sia la sorveglianza sulla salute che il monitoraggio ambientale; è usata per produrre dati epidemiologici sulla estensione e sulla tendenza dell'inquinamento ambientale, sull'esposizione e sugli effetti dannosi correlati. L'identificazione e quantificazione della presenza di fattori di rischio, che sono in teoria già conosciuti, sono pure elementi della sorveglianza nel campo dell'igiene ambientale. Ma la sorveglianza non include la ricerca eziologica, la identificazione di interventi o la prova sperimentale di potenziali interventi. (Halperin, 1992).

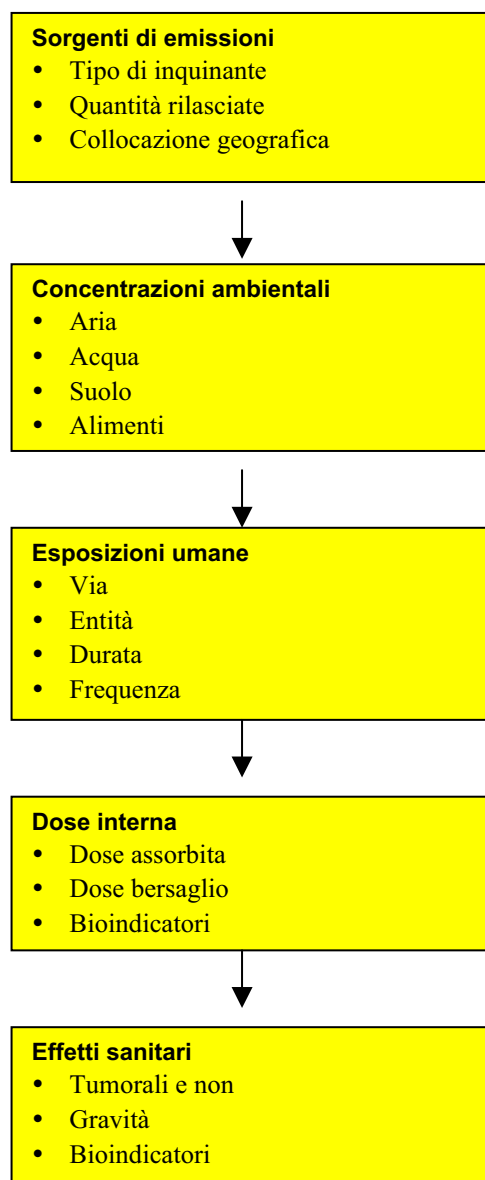
La sorveglianza può fornire un'ulteriore prova dell'esposizione e dell'associazione degli effetti che la ricerca epidemiologica ha già individuato, ma per i quali i meccanismi di causalità rimangono sconosciuti. L'informazione ottenuta con la sorveglianza e le attività di monitoraggio può supportare alcuni criteri causali, come quello che la distribuzione dell'effetto si correla con la distribuzione dell'agente ambientale, o che la eliminazione o una significativa riduzione dell'agente ambientale ha come risultato la scomparsa o la diminuzione dell'effetto (vedi la discussione della causalità nel paragrafo 3.6).

La sorveglianza e il monitoraggio dovrebbero formare i componenti operativi dei programmi di controllo e di gestione dell'igiene ambientale, e dovrebbero essere diretti alla valutazione dell'impatto di tali programmi. La sorveglianza sanitaria ambientale ottiene e analizza vari dati di monitoraggio ambientale e della salute. In generale, l'informazione ottenuta attraverso la sorveglianza di un particolare contaminante e dei suoi effetti correlati sulla salute può essere categorizzata come segue:

- Informazione sulle fonti dell'inquinante, comprendente la frequenza e le quantità del rilascio, e le principali matrici colpite (alimenti, aria, suolo e acqua).
- Caratteristiche del comportamento dell'agente nell'ambiente, es. trasporto, cambiamenti chimici, interazione con gli esseri viventi e destino.
- Livelli di concentrazione del contaminante nelle matrici che possono rappresentare una esposizione dannosa per l'uomo.
- Caratteristiche e modalità di esposizione all'agente ambientale della popolazione a rischio.
- Informazione sulla comparsa di effetti dannosi (tipo, frequenza e gravità) nella popolazione a rischio di esposizione. Dati sugli effetti dannosi possono essere prodotti a livello pre-clinico (monitoraggio biologico, screening o indagini sanitarie), a livello clinico (monitoraggio della salute, sistemi di segnalazione o registri specializzati) e da certificati di morte.

La Figura 10.1 descrive le principali fonti di informazione che possono essere richieste per interpretare l'esposizione a uno specifico agente ambientale pericoloso in una data popolazione. Le fonti di informazione che devono essere prese in considerazione si riferiscono ad ogni fase del percorso del fattore di rischio ambientale descritta nel Capitolo 4 e illustrata nella Figura 4.1.

**Figura 10.1** Principali fonti di informazione per valutare un rischio ambientale



I dati ottenuti nello schema derivano da numerose fonti. Questa diversità di informazione richiede che durante la raccolta dei dati siano seguiti severamente controllo e procedure di assicurazione di qualità, altrimenti la qualità dei dati e le successive analisi saranno discutibili (vedi Capitolo 4). I dati derivati da attività di monitoraggio ambientale possono essere usati:

- per confrontare gli attuali livelli ambientali o biologici dei contaminanti, per i quali esistono valori regolamentati;
- stimare quantitativamente il livello di rischio di una popolazione attraverso procedure di caratterizzazione del rischio;
- valutare l'efficacia di misure preventive e di controllo analizzando i trend di concentrazione del contaminante, nell'ambiente e all'interno del corpo umano;
- identificare e valutare i fattori riguardanti le fonti di inquinamento, come aumento/diminuzione del rilascio, rilevazione precoce di nuovi inquinanti, conformità con standard di emissione, importanza delle misure preventive primarie, e variazione nel tempo e nello spazio degli inquinanti.

I dati derivati da attività di sorveglianza sanitaria possono essere usati per:

- pianificare le risorse per la cura della salute;
- stabilire le priorità nella cura della salute;
- fornire sistemi di allerta precoce per problemi emergenti di salute pubblica;
- identificare interventi appropriati e procedure di controllo;
- valutare la politica sanitaria o le strategie organizzative;
- fornire linee guida riguardanti priorità di ricerca.

L'informazione ottenuta da **attività collegate di sorveglianza sanitaria** (vale a dire collegamento fra il monitoraggio dell'esposizione con i dati sulla sorveglianza sanitaria) può essere usata per:

- stabilire la correlazione dose - risposta collegando la frequenza e/o la gravità degli effetti dannosi con i dati sui livelli di inquinamento ambientale o biologico;
- verificare la efficacia degli standard ambientali;
- aiutare la ricerca epidemiologica di base su specifici inquinanti;
- valutare l'impatto di un programma di prevenzione e controllo analizzando frequenza e trend di specifici effetti sanitari dannosi.

Numerosi documenti e pubblicazioni sulla sorveglianza e il monitoraggio possono essere ottenuti dall'OMS. Il paragrafo 12.2 fornisce ulteriori riferimenti per acqua, aria, cibo, l'ambiente di lavoro ed altro. OMS e UNEP hanno collaborato nelle attività di monitoraggio e il Global Environmental Monitoring System (GEMS) ha raccolto informazioni sul monitoraggio dell'aria, acqua e alimenti e anche informazioni sul monitoraggio biologico di piombo, cadmio, pesticidi organoclorurati e difenili policlorurati.

### **Programmi di monitoraggio ambientale**

Il monitoraggio ambientale è definito come un programma sistematico per misurare le concentrazioni ambientali degli agenti presi in considerazione, come pure dei parametri correlati, come temperatura e tempo, che possono influenzare l'esposizione. Il fine dei programmi di monitoraggio ambientale è quello di osservare l'esposizione di una popolazione ad agenti ambientali, e, se possibile, quantificare quelle esposizioni. Il monitoraggio ambientale è fondamentale per qualsiasi programma di sorveglianza igienico-ambientale. Analisi tipiche di dati di monitoraggio ambientale comprendono dati di stato e trend per svariati agenti ambientali, la correlazione dei dati di esposizione con la presenza di effetti sanitari, e il collegamento di serie di dati sulla salute con i dati di monitoraggio ambientale.

Un programma di monitoraggio ambientale dovrebbe includere:

- identificazione e selezione di siti di campionamento che siano rappresentativi di condizioni di esposizione all'interno della popolazione;
- scelta della frequenza del campionamento;
- metodi standardizzati per la raccolta, trasporto e analisi di laboratorio dei campioni;
- registrazione standardizzata dei risultati e loro successiva analisi.

Rispetto alla produzione di informazioni di interesse epidemiologico, il monitoraggio ambientale ha alcuni vantaggi:

- è relativamente facile effettuarlo;
- può includere un gran numero di parametri nello studio;
- può essere svolto per lunghi periodi;
- è indipendente dalla accettazione della comunità;
- può essere modificato facilmente a seconda del variare delle condizioni dell'ambiente;
- è un mezzo semplice di seguire la concentrazione, distribuzione, variazione ed i trend di un contaminante nell'ambiente.

I programmi di monitoraggio ambientale dovrebbero essere strutturati in modo tale che sia registrata e riportata la concentrazione realmente misurata dell'inquinante. Programmi che usano singoli livelli



di azione (cioè che riportano solo se una concentrazione di inquinanti è superiore o inferiore a uno specifico valore) limitano l'utilizzazione e l'interpretazione dei dati. Misurando i livelli reali di concentrazione è possibile valutare la correlazione dose - risposta per la popolazione sotto osservazione. Inoltre, spesso, devono essere adottati speciali metodi di sorveglianza al fine di valutare l'esposizione a seconda delle caratteristiche di attività della popolazione e in modo tale che si tenga conto di variabili, quali il fumare, il bere e la dieta. Informazioni che riguardano queste variabili sono meglio ottenute attraverso specifiche indagini trasversali, piuttosto che da dati raccolti sistematicamente e abitualmente.

### **Sorveglianza sanitaria**

Il fine della sorveglianza sanitaria (per le malattie) è quello di capire le caratteristiche di una malattia man mano che si sviluppano e la possibilità che la malattia si manifesti in una popolazione, così che i funzionari di sanità pubblica possano essere efficaci nel ricercare, controllare e prevenire quella malattia in quella popolazione (CDC,1992). La maggior parte dei programmi di sorveglianza sulle malattie raccoglie informazioni di mortalità e morbosità per determinate malattie. L'uso di informazioni sulla morbosità e mortalità per la sorveglianza sanitaria associato con le esposizioni ambientali è limitato. La sorveglianza sulle malattie richiede la definizione chiara dei casi, basata sulla descrizione dei sintomi, dei dati clinici e dei test diagnostici. Questa informazione dovrebbe essere diffusa ampiamente fra lo staff clinico e di laboratorio, la cui responsabilità è quella di individuare la presenza della malattia.

Se debbono essere ricercati effetti cronici o malattie con lunghi periodi di latenza, sarà molto interessante identificare indicatori iniziali della malattia. L'informazione sugli effetti con latenza prolungata può essere ottenuta usando tecniche di screening per identificare i marcatori biologici del danno iniziale preclinico, o almeno per confermare che è avvenuta una esposizione biologica.

### **Registri di esposizione**

L'informazione riguardante gli effetti sulla popolazione generale di esposizioni di basso livello e di lunga durata (come nel caso di una comunità che vive in vicinanza di un sito inquinato pericoloso) o gli effetti di una esposizione di breve tempo, di livello elevato, può essere interessante per la gestione dell'igiene ambientale. Comunque, questa informazione richiede un meccanismo che raccolga e mantenga l'informazione dell'esposizione nel tempo per collegarla con la sorveglianza sull'esito sulla salute.

Un registro di esposizione è un sistema di raccolta longitudinale e di mantenimento dell'informazione (in un record strutturato). I registri di esposizione documentano l'esposizione ambientale a specifiche sostanze pericolose per popolazioni definite. Il National Exposure Registry negli Stati Uniti, ad esempio, comprende sub - registri specifici per sostanze chimiche che elencano persone per le quali è stata documentata l'esposizione ambientale alla specifica sostanza chimica. L'informazione riguardante un individuo è segnata nel registro se sono soddisfatti i seguenti criteri:

- esiste conferma che una matrice è contaminata;
- vi è una via di trasmissione dall'agente alla persona;
- esiste la prova che la trasmissione è avvenuta realmente o che l'individuo è stato realmente esposto (ATSDR, 1994).

Lo scopo di un registro di esposizione è quello di aiutare la valutazione delle conseguenze sulla salute a lungo termine di esposizioni ambientali a sostanze pericolose. Più specificatamente, un registro di esposizione mira a facilitare studi epidemiologici, creando raccolte di dati che siano ampie e abbastanza complete da permettere la verifica, a un livello predeterminato di probabilità statistica, su quali si ritiene siano gli effetti dannosi per la salute conosciuti (test di ipotesi) o la identificazione degli effetti dannosi per la salute precedentemente sconosciuti (generazione di ipotesi).

I registri di esposizione sono particolarmente utili per assemblare l'informazione necessaria per produrre ipotesi. Infatti, per la maggior parte delle sostanze pericolose e loro miscele, gli effetti sulla

salute non sono conosciuti oppure non sono ben definiti. Con poche eccezioni, l'informazione sulla salute per esposizione a sostanze chimiche è basata su esposizioni occupazionali o su studi tossicologici a breve termine, con esposizioni di livello elevato. Tuttavia molte esposizioni a sostanze chimiche avvengono per una via diversa dalla inalazione e colpiscono sottogruppi vulnerabili, quali anziani, bambini, donne gravide, e quelli in salute precaria. Se gli effetti specifici sulla salute non sono conosciuti, i registri di esposizione raccolgono informazioni su tutti gli effetti sulla salute.

Dato che gli esiti finali e gli effetti sulla salute sono sconosciuti o mal definiti, nella maggior parte dei casi, è pure probabile che sia sconosciuto il periodo di latenza della malattia. Ciò è dovuto al fatto che i registri di esposizione sono longitudinali (cioè in divenire) e la stessa informazione demografica di base, l'esposizione ambientale, l'informazione sull'occupazione e sulla salute sono raccolti da ciascun registrante al momento iniziale e ad ogni controllo (ogni anno o due) per ciascun sub-registro. Sono pure raccolti dati sul biomonitoraggio (vedi Capitoli 2 e 5) o campioni biologici, se ne esiste la capacità e se sono disponibili risorse.

Un registro di esposizione può anche fornire le informazioni richieste per eseguire una sorveglianza sulla salute e stimare il carico economico o sociale degli effetti dell'esposizione su una popolazione nel suo complesso. Cosa forse anche più importante, un registro di esposizione può essere usato per rispondere a tre delle necessità che sono comunemente espresse dalle comunità che si considerano a rischio di esposizione ambientale: può essere usato per aiutare ad identificare con certezza l'avvenuta esposizione; può formare la base di un impegno in divenire per risolvere il problema; può contribuire agli sforzi di assicurare che tutte le informazioni riguardanti l'esposizione siano rese disponibili pubblicamente.

Attraverso il confronto delle percentuali di segnalazioni di effetti sulla salute, con le norme nazionali esistenti, possono essere identificati o confermati i potenziali problemi sanitari. Questa fase dovrebbe essere seguita da più profondi studi sulla salute per esplorare la validità o l'estensione del problema sanitario. Confrontando l'informazione longitudinale all'interno di un sub-registro, possono pure essere identificati possibili cambiamenti o tendenze della malattia e possono essere intraprese azioni appropriate. I registri di esposizione possono anche essere usati, assieme a dati di monitoraggio ambientale o a dati di sorveglianza sanitaria, per valutare l'efficacia di precedenti azioni preventive, se queste sono state correlate alla salute o all'ambiente.

Il sub-registro del Tricloroetilene (TCE) dell'United States National Exposure Registry è un esempio di un registro di esposizione che ha dato prova di essere un utile strumento per l'epidemiologia ambientale (ASTDR, 1993). Sono stati raccolti dati su 4880 persone in 13 siti di rifiuti nei quali era stata documentata l'esposizione a TCE. Gli individui interessati avevano consumato acqua contaminata con TCE. Il tasso delle condizioni di salute riportate è stato confrontato con i tassi di una indagine sanitaria nazionale (National Health Interview Survey) (NCHS, 1989). Dopo controlli per diversi fattori, comprendenti sesso, età e livelli più elevati di istruzione, si è osservato che i tassi fra la popolazione esposta a TCE erano significativamente elevati per numerosi effetti sulla salute, per sottopopolazioni selezionate in base al sesso e all'età. Particolarmente preoccupante è stato l'aumento dei tassi riportati su deficit del linguaggio, dell'udito, sull'anemia, e su condizioni cardiache, fra bambini al di sotto dei 10 anni di età. La Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) sta svolgendo studi epidemiologici per valutare l'ipotesi che i tassi dei dati riportati siano più elevati di quanto ci si sarebbe aspettato normalmente a causa di una raccolta dei dati più efficiente in queste aree che altrove. Inoltre, ATSDR sta svolgendo studi sui dati per apoplessia, condizioni cardiache e ipertensione risultati statisticamente aumentati nella popolazione totale del registro TCE.

## 10.2 Indagini epidemiche

“Chiunque voglia fare ricerca in campo medico in modo appropriato dovrebbe procedere così.... Quando arriva in una città sconosciuta, dovrebbe prendere in considerazione la sua posizione, come si trova rispetto al vento e al sole, e considerare le acque che la gente usa. Se conosce bene queste cose, infatti non può mancare di conoscere le malattie tipiche del posto”. (Ippocrate)

I responsabili della salute pubblica devono occuparsi dei problemi sanitari tradizionali delle malattie infettive e delle malattie croniche, misurando la prevalenza dei fattori di rischio conosciuti (stile di vita, ambientali, demografici) che possono avere impatto sull'instaurarsi della malattia. Se una malattia è facilmente identificata e la correlazione fra essa e l'esposizione che la riguarda, o i fattori di rischio sono ben conosciuti, possono essere seguite le procedure stabilite per la valutazione epidemiologica e la protezione della popolazione. Ma la situazione può essere molto diversa se non vi è un evidente agente infettivo, tossico o di altra origine, o se la correlazione fra l'agente sospettato e l'effetto sulla salute non è chiara. Problemi di igiene ambientale comprendono non solo malattie epidemiche, comunque, ma riguardano anche una potenziale o esistente esposizione a contaminanti ambientali che può portare alla malattia.

Esposizioni a contaminanti ambientali sono spesso viste da funzionari pubblici e di governo come collegate a gruppi di malattie, anche se i legami possono essere, tutt'al più, molto tenui. Queste “epidemie” o asserite correlazioni fra condizioni ambientali e gruppi di malattie dovrebbero pertanto essere studiate al fine di rispondere o di calmare le preoccupazioni. Tali indagini possono aiutare a garantire il rispetto dei requisiti di legge (come le leggi sulla salute pubblica per contenere le epidemie di malattie infettive), servono come risposta alle preoccupazioni politiche e forniscono una opportunità per le ricerche epidemiologiche e per la formazione (CDC, 1992).

Un'indagine su un'epidemia dovrebbe comprendere i principi epidemiologici di base. Numerosi manuali descrivono questi ultimi e la procedura che l'indagine dovrebbe seguire (WHO, 1991b; CDC, 1992). Un protocollo di gestione è fondamentale: assicurerà infatti che la ricerca proceda in modo sistematico e che lungo il cammino non siano tralasciati punti importanti. La Tabella 10.1 presenta un esempio di tale protocollo; in pratica, numerosi punti possono essere sviluppati nello stesso tempo e può essere seguito un ordine differente a seconda delle circostanze.

**Tabella 10.1 Protocollo d'indagine in caso di epidemia**

- 
1. Prepararsi al lavoro sul campo
  2. Confermare l'esistenza di una epidemia
  3. Verificare la diagnosi
  4. Definire, identificare e contare i casi
  5. Utilizzare l'epidemiologia descrittiva
  6. Sviluppare ipotesi
  7. Valutare ipotesi e prendere in considerazione ulteriori studi
  8. Riconsiderare/ritoccare le ipotesi ed eseguire ulteriori studi
  9. Implementare i controlli e le misure preventive
  10. Comunicare i dati
- 

*Fonte: adattato da Fiore et al., 1990.*

### **Preparare il lavoro sul campo**

E' spesso tassativo procedere rapidamente in un'indagine su un'epidemia. Stabilito un protocollo standard, da usarsi in tutte le indagini su epidemie, e assicuratisi che i responsabili della salute pubblica siano ben preparati, può essere evitato un inutile rinvio. Per prepararsi per ogni probabile

ricerca è essenziale una biblioteca o un set di testi di riferimento su varie comuni malattie di origine ambientale. Questo permetterà al/ai ricercatore/i di sviluppare una comprensione delle conoscenze di base della malattia (se conosciuta) o del contaminante ambientale (se conosciuto). Vi sono due ragioni per ritenere necessaria una tale fonte di informazione. La prima è che, dato lo sviluppo e la produzione sempre più ampi di sostanze chimiche, è virtualmente impossibile per un ricercatore essere completamente e correntemente informato sulle proprietà tossicologiche e sull'uso di tutte le sostanze chimiche sul mercato. La seconda ragione riguarda nuovi patogeni microbici che possono essere gli agenti eziologici di un'epidemia: essi vengono continuamente identificati, ed è dunque improbabile che un ricercatore possa essere informato su tutti.

Dovrebbe anche essere disponibile un kit di ricerca di base, contenente, ad esempio: materiale di collezione di campioni clinici; kit per campionamento ambientale; schede di raccolta di segnalazioni o dati sull'epidemia; macchina fotografica; registratore, calcolatrice o computer portatile (IAMFES, 1979; IAMFES, 1983; IAMFES, 1988; CDC, 1992). Nel caso di un'epidemia, ulteriori dispositivi possono essere aggiunti una volta che si conoscano necessità più specifiche.

Le epidemie sono generalmente studiate da un gruppo di persone, comprendenti un epidemiologo, specialisti medici appropriati ed esperti dell'ambiente (microbiologi, chimici ecc.) a seconda delle necessità. Una volta che è stato formato il gruppo di indagine, possono essere stabiliti il ruolo e la responsabilità di ciascun membro. Questo può essere fatto durante lo sviluppo del piano di studio. Si raccomanda che a uno dei membri del gruppo sia assegnato il compito di fornire informazioni agli altri responsabili della salute pubblica e al pubblico in generale. Lo stesso membro dovrebbe anche servire da centro di smistamento di informazioni per gli altri membri del gruppo. Più ampia è l'epidemia, più ampio deve essere il gruppo e più grande la necessità di facilitare la comunicazione.

### **Confermare l'esistenza di un'epidemia**

La possibilità che si sia verificata epidemia, di solito, diventa evidente in due modi: sia attraverso l'analisi di dati di sorveglianza, sia seguendo la segnalazione di un aumento del numero di "casi di malattia" o di un contaminante nell'ambiente (es. sversamento chimico, inversione atmosferica). In ambedue i casi, dovrebbe essere esaminata la precedente storia di monitoraggio sanitario o ambientale della comunità colpita, per accertare se il preteso incremento è reale. Ciò può comprendere la analisi dei risultati di programmi di sorveglianza e monitoraggio e la consultazione dei documenti ospedalieri e clinici. Può essere anche utile condurre una visita informale agli operatori sanitari o confrontare lo stato della salute della comunità interessata con quello di una comunità vicina.

Molti fattori possono contribuire a far credere che vi sia stata una epidemia. Questi comprendono:

- cambiamenti nelle procedure di registrazione locale (nuovo personale può essere più preciso nel segnalare la malattia);
- miglioramento della diagnosi;
- aumentata consapevolezza locale o nazionale sulla specifica malattia;
- cambiamenti nei servizi di sanità locale che incoraggiano più casi a richiedere la cura;
- improvviso aumento della popolazione (come avviene in luoghi di villeggiatura, città universitarie o centri di convegni) che si riflette in un incremento del denominatore.

### **Verificare la diagnosi**

Un punto fondamentale per stabilire l'esistenza di una epidemia è quello di verificare l'identificazione della malattia o della condizione della salute. La diagnosi deve essere verificata in modo da assicurarsi che il problema sia stato accuratamente diagnosticato e in modo da escludere errori di laboratorio - se la diagnosi richiede analisi di laboratorio di campioni - come motivo dell'aumento del numero di casi diagnosticati. Se si sta investigando su un aumento dell'esposizione ambientale, i dati di laboratorio, le procedure e i programmi di controllo della qualità devono essere rivisti, al fine di confermare che l'errore di laboratorio non è la causa dell'apparente aumento nell'esposizione.

Così pure, per verificare la diagnosi, devono essere registrati i sintomi e i segni specifici della malattia. Molte delle linee guida e delle procedure discusse nei Capitoli 4 e 5 possono essere applicati a questo punto. Si raccomanda che il ricercatore o i membri del gruppo di ricerca intervistino gli individui che hanno contratto la malattia per aiutare a produrre ipotesi sulle cause dell'epidemia.

### **Stabilire una definizione di caso e contare i casi**

Una definizione di caso è una serie standard di criteri per decidere se un individuo può essere classificato come a rischio per l'esposizione che interessa, o per aver contratto la malattia che interessa (vedi il paragrafo 5.1). Se si sta investigando su una epidemia in base alla segnalazione di un aumento dell'incidenza di una specifica malattia, la definizione di caso può essere molto semplice. Invece, se si sta conducendo una ricerca per un improvviso aumento dell'esposizione a un contaminante ambientale, può essere valido il contrario. Ad esempio, molti contaminanti ambientali possono causare svariati effetti sulla salute. Oppure, gli effetti sulla salute possono essere soggettivi; cioè, essi non possono essere facilmente verificati o quantificati. Essi possono pertanto comprendere affaticamento, mal di testa, mialgia, perdita del sonno o irritazione oculare. Il tempo è un componente essenziale di una definizione di caso. Ad esempio, una persona che ha una malattia da lunga data non dovrebbe essere considerato un caso se l'esposizione e il relativo danno sulla salute sono recenti.

Può essere necessario modificare la definizione di caso man mano che l'indagine procede. All'inizio, infatti, l'informazione sui casi può essere incompleta (cioè campioni clinici non sono disponibili per ogni caso) o in fase di ottenimento (cioè campioni clinici sono in corso di esame). Ciò può accadere in particolare nel caso della mortalità. Se una ricerca è iniziata non appena l'epidemia è scoppiata, l'informazione sui casi deceduti può essere mancante. Può quindi essere utile classificare i casi come sicuro, probabile o possibile. Come l'indagine procede e più informazioni diventano disponibili, i criteri di inclusione in una specifica categoria possono cambiare, permettendo di raffinare la definizione di caso.

Una volta che la definizione di caso è stata messa a punto, deve essere accertato il numero dei casi. Questo può essere fatto in svariati modi; il tipo di epidemia e la caratteristica della comunità serviranno a definire quale sia il più appropriato. Se l'epidemia è dovuta a una malattia per la quale è probabile il ricovero ospedaliero, il luogo logico da cui cominciare è l'ospedale locale o l'ospedale specialistico di riferimento più vicino. Alcune epidemie possono richiedere che il pubblico sia allertato attraverso i media locali. In tal caso, i medici di sanità pubblica possono richiedere che gli individui con determinati sintomi o altre caratteristiche telefonino o avvertano il centro di ricerca. Se la malattia non richiede ricovero, il rilevamento porta a porta nel quartiere prescelto, anche se è un lavoro molto gravoso, è probabilmente il mezzo più sicuro per ottenere una raccolta accurata dei casi.

Cinque tipi di informazione devono essere raccolti per ogni caso:

1. **Nome, indirizzo e numero di telefono (se disponibile):** sono utili per verificare i risultati di laboratorio, per il controllo di segnalazioni doppie, per il mappaggio dell'estensione geografica del problema e per ricercare ulteriori informazioni.
2. **Informazione demografica:** permette di eseguire una epidemiologia descrittiva standard; cioè l'epidemia può essere caratterizzata per età e genere.
3. **Informazione clinica:** permette la verifica o la classificazione di ogni individuo come caso sicuro, probabile o possibile.
4. **Informazione sul fattore di rischio:** comprende l'informazione su possibili fattori di rischio associati con l'esposizione o la malattia in questione.
5. **Identificazione dell'individuo(i) che ha fornito l'informazione iniziale sul caso:** è importante se una epidemia ha avuto come risultato la morte, una malattia grave, o se ha colpito soggetti molto giovani o anziani.

### Eseguire indagini di epidemiologia descrittiva

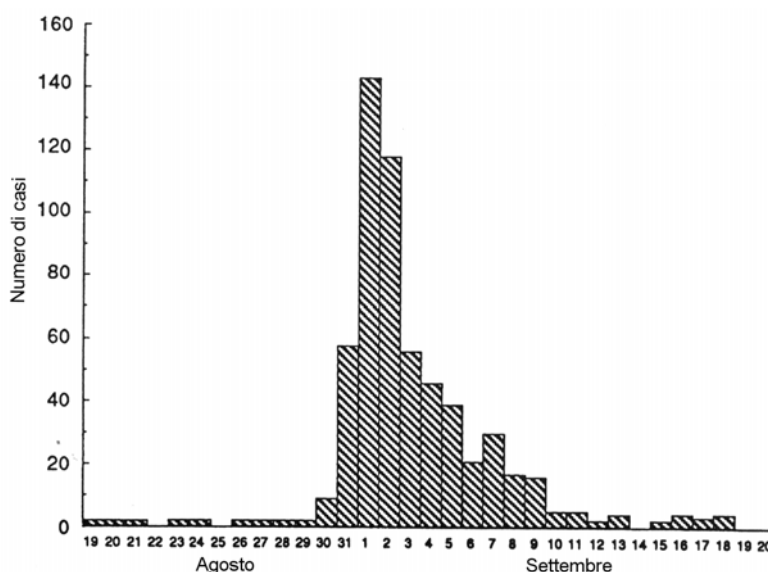
L'epidemiologia descrittiva caratterizza una epidemia soprattutto in termini di persona, luogo e tempo: questa è una pratica epidemiologica di base (Beaglehole *et al.*, 1993). (Vedi paragrafo 6.2, per una discussione sull'epidemiologia descrittiva). Oltre a fornire una descrizione preliminare, si dovrebbero proporre o formulare ipotesi sulle cause dell'epidemia e identificare indizi o possibili errori nei dati che la riguardano. L'epidemiologia descrittiva dovrebbe essere effettuata non appena possibile nel corso dell'indagine. Descrizioni o definizioni possono essere modificate o aggiunte più tardi, se diventano disponibili ulteriori dati.

La “persona” è definita usando le caratteristiche demografiche standard di età, genere, razza (gruppo etnico), occupazione (attuale e passata) e ogni altra caratteristica individuale relativa alla malattia (es. abitudini alimentari).

La descrizione della epidemia in base al “posto” fornisce l'informazione sulla localizzazione geografica del problema e può mettere in evidenza gruppi o campioni che danno supporto all'ipotesi. La tecnica più comune per descrivere il luogo è attraverso l'uso di una “spot map” (mappa con i punti segnati).

Il decorso temporale di un'epidemia è di solito rappresentato tracciando un istogramma del numero di casi in base alla data di inizio. Questo grafico è chiamato curva epidemica. La costruzione di questa curva e la sua interpretazione sono trattati in *Basic Epidemiology* (Beaglehole *et al.*, 1993). Un esempio classico è l'epidemia di colera a Londra del 1854 studiata da John Snow (vedi Figura 10.2).

**Figura 10.2** Epidemia di colera a Londra, agosto-settembre 1854



Fonte: Beaglehole *et al.*, adattato da Snow, 1855

### Sviluppare ipotesi

Seguendo la denuncia di una possibile epidemia, i ricercatori generalmente cominciano a sviluppare ipotesi sulla sua causa. Via via che sono analizzate ulteriori informazioni, le ipotesi sono riviste o ridefinite. Le ipotesi dovrebbero far riferimento alla fonte dell'agente, alla modalità di trasmissione e all'esposizione che si ritiene causa della malattia, o alle malattie che potrebbero essere state causate da esposizioni specifiche.

### Valutare le ipotesi e prendere in considerazione ulteriori studi

Le ipotesi sulla causa di una epidemia sono analizzate, all'inizio, per controllarle alla luce di fatti provati. Questa analisi si basa su prove cliniche, di laboratorio, ambientali o epidemiologiche. Le

tecniche di laboratorio per analizzare le ipotesi comprendono l'identificazione o siero tipizzazione di microrganismi trovati in campioni clinici e il confronto di questi con gli organismi trovati nei campioni ambientali. Ambedue i metodi possono essere usati per produrre la prova conclusiva per sostenere (o rifiutare) l'ipotesi proposta.

Se i dati descrittivi non supportano le ipotesi iniziali, devono essere intrapresi ulteriori studi. I disegni dello studio sono di solito analitici (eziologici) (vedi Capitolo 6).

Decidere se condurre ulteriori studi può essere difficile. E' sempre possibile che essi non forniscano un'informazione che confermi (o rifiuti) l'ipotesi. Un assioma comune in epidemiologia è che se non puoi formulare una ipotesi primaria "buona" (parlando con i casi ed esaminando l'epidemiologia descrittiva), non varrà la pena procedere con la epidemiologia analitica. Talvolta uno studio analitico fornirà qualche supporto per una ipotesi, ma può essere necessario che l'ipotesi sia affinata o si ottengano ulteriori informazioni. Comunque, si dovrebbe tenere a mente che una ragione per indagare su una epidemia è quella di allargare la nostra base di conoscenza. In altre parole, un'epidemia è un "esperimento di natura" che fornisce una opportunità di studiare tutte le esposizioni possibili e i loro effetti sull'uomo. Analogamente, le circostanze dell'epidemia possono fornire una opportunità di imparare di più su un pericolo ambientale. Nell'affinamento dell'ipotesi, è anche utile prendere in considerazione questioni senza risposta riguardanti una particolare malattia o esposizione ambientale.

#### **Implementare misure di controllo e di prevenzione**

Il fine di ogni indagine su un'epidemia è quello di identificare misure di controllo e di prevenzione. Le misure richieste spesso diventano evidenti prima che l'indagine sia stata completata e dovrebbero essere implementate senza indugio. Per epidemie ambientali questo può significare controllo della fonte (es. emissioni al camino), interruzione della modalità di trasmissione (es. mediante disinfezione dell'acqua potabile) o rimozione della popolazione a rischio (es. evacuando popolazioni da siti contaminati). Indagini su epidemie qualche volta indicano anche misure di politica a lungo termine per la prevenzione (es. trattamento dell'acqua potabile) o indicano priorità per la sanità pubblica (es. controlli sugli alimenti per il piombo) o misure preventive (es. divieto di fumare in ambienti pubblici).

#### **Comunicare i dati**

Una volta che l'indagine è stata completata, dovrebbero essere preparati due tipi di comunicazione. La prima dovrebbe essere una presentazione orale per funzionari governativi che illustri i dati dell'indagine in un linguaggio semplice e chiaro. La seconda comunicazione dovrebbe essere un rapporto, o rapporti scritti, possibilmente diretta a destinatari differenti - i funzionari pubblici, governativi - ed alla comunità scientifica. I rapporti scritti dovrebbero seguire l'abituale forma scientifica con introduzione, premessa, metodi, risultati, discussione e raccomandazioni. Un rapporto scritto serve come riferimento per future indagini sull'epidemia. Può pure servire come base per piani per reimpostare o modificare politiche sanitarie ambientali esistenti. L'importanza della comunicazione è ulteriormente discussa al paragrafo 10.7.

### **Box 10.1 Studio di caso: malattia epidemica di origine idrica**

#### **Stabilire l'esistenza dell'epidemia**

Il 9 luglio 1990, il dipartimento di malattie infettive del Cook County Hospital di Chicago ha segnalato che alcuni medici dello staff avevano manifestato l'inizio di diarrea il 7 e 8 luglio. All'incirca alle ore 1 del 5 luglio, la pompa principale dell'acqua si era fermata e i serbatoi di stoccaggio sul tetto dell'edificio di residenza dei medici si erano di conseguenza svuotati. Circa alle ore 7 dello stesso giorno, la pompa era stata riparata e fatta ripartire. Durante questo periodo sono pervenute numerose lamentele per la bassa pressione dell'acqua e per la mancanza di acqua. Più tardi nello stesso giorno, attorno alle ore 9, si è avuto un altro arresto della pompa. Ulteriori reclami sulla mancanza di acqua sono stati inoltrati dalla residenza dei medici interni.

#### **Verificare la diagnosi**

Dal 10 luglio al 7 agosto sono stati raccolti campioni di feci da persone malate (17 dello staff di medici interni e 3 di altri impiegati). Le colture erano negative per *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, e *Vibrio*, e non sono state rilevate uova di parassiti. Comunque, l'esame microscopico diretto e dopo colorazione con colorante acido resistente di campioni di feci di 9 dello staff dei medici interni e uno degli altri impiegati ha rivelato la presenza di cyanobacteria - like - bodies (CLB).

#### **Definire e identificare i casi**

I sintomi clinici includevano un prodromo di un giorno di malessere e di febbre leggera, seguiti da diarrea acquosa esplosiva, anoressia, crampi addominali severi, nausea e vomito occasionale. La remissione della diarrea di solito avveniva dopo 3-4 giorni ma era seguita da un ciclo di ricadute e remissioni della durata di più di 4 settimane. Durante le remissioni, i pazienti notavano malessere continuo e anoressia, talvolta accompagnati da costipazione. Sono stati confermati tra i 18 e 21 casi di malattia.

#### **Condurre attività di epidemiologia descrittiva**

Il periodo di incubazione di questa malattia è stato stimato essere di 48 ore. Questa stima è stata basata sulla lunghezza del tempo che è trascorso tra l'iniziale rottura della pompa (5 luglio) e la segnalazione del primo caso (7 luglio). Una analisi descrittiva dei dati indicava che l'epidemia era limitata ai residenti dell'edificio.

#### **Sviluppare l'ipotesi**

La presenza di CLB nei campioni di feci e la ricerca epidemiologica hanno indicato come fonte di infezione l'esposizione a una fornitura di acqua contaminata. Il periodo di rottura della pompa (appena prima dell'inizio dell'epidemia) ha coinvolto anche la fornitura di acqua.

#### **Valutare l'ipotesi**

Lo staff del Cook County Hospital ha campionato l'acqua da alcuni punti in tutto l'edificio il 10 luglio e tutti i campioni sono risultati negativi. Il 20 luglio, campionamenti di acqua e raschiature sono stati eseguiti dal fondo dei due serbatoi di stoccaggio sul tetto. Non sono state trovate alghe blu verdi ma erano presenti alghe diatomee, ritenute vitali.

Una sorveglianza random del 25 % dei residenti e lavoratori della residenza ha permesso di identificare ulteriori 18 persone che erano state sintomatiche durante l'intervallo di tempo preso in esame.

La fornitura di acqua potabile della residenza è collegata alla fornitura pubblica dell'acqua di Chicago. L'acqua entrando nella residenza passa attraverso tre unità filtro a pressione. I filtri sono disposti in parallelo e ognuno è fra i 1,5 e 2 m di diametro e alto circa 2,3 m. Nell'indagine è stato trovato che durante il flusso dell'acqua attraverso il filtro, avveniva qualche perdita di pressione attraverso ciascun filtro: ciò indicava che l'agente era presente in ogni filtro. Il personale di servizio della residenza ha segnalato che i filtri non erano stati ripuliti da almeno 10 anni (il periodo di tempo nel quale il personale era stato impiegato nella residenza).



Una volta passata attraverso i filtri, l'acqua fluisce in una vasca di espansione che alimenta la pompa principale. La pompa principale poi trasferisce l'acqua in due serbatoi di stoccaggio sul tetto, che alimentano il sistema di distribuzione della residenza per gravità. I due serbatoi di stoccaggio sul tetto (ciascuno di circa 20.000 litri di capacità) sono sistemati in una area sotto tetto e sostanzialmente scoperta. Una tela catramata era disponibile per la copertura dei serbatoi, ma non sembrava essere di uso costante. La linea dell'acqua derivante dalla pompa nel seminterrato è divisa in due, e ciascuna serve un serbatoio di stoccaggio. Il flusso in arrivo entra dalla sommità di ciascun serbatoio di stoccaggio e poi cade libero all'interno. Le linee di efflusso dei serbatoi sono localizzate a circa 25-30 cm dal fondo dei serbatoi. L'efflusso dei due serbatoi è mescolato prima di entrare nel sistema di distribuzione della residenza. La profondità dell'acqua in ciascun serbatoio di stoccaggio di solito varia da meno di 1,5 m a più di 2,7 m.

L'area del sottotetto non era separata dall'ambiente esterno. Alcune finestre erano rotte e non erano disponibili ripari. Feci di uccelli sono state trovate sul bordo dei serbatoi di stoccaggio, sui tubi collocati sopra i serbatoi, e sulla tela catramata che copriva parzialmente un serbatoio che ancora conteneva dell'acqua.

Se l'acqua potabile è stata la fonte della contaminazione, la contaminazione probabilmente è avvenuta nei serbatoi di stoccaggio del sottotetto. Quando si è avuta la rottura della pompa, il livello dell'acqua nei serbatoi si è abbassato all'altezza della linea di efflusso (circa 25-30 cm al di sopra del fondo del serbatoio). Questi 25 cm di acqua rimanenti generalmente costituiscono una zona stagnante nella quale l'acqua si muove molto poco o per nulla. L'acqua in questa zona normalmente non sarebbe mescolata con l'acqua della zona superiore e la sua concentrazione in cloro sarebbe molto bassa. Questa zona più bassa è pertanto una probabile area di crescita biologica. Quando si è avuta la rottura della pompa, i serbatoi erano drenati fino a questo livello. Quando la pompa è tornata in funzione, la nuova acqua, arrivando nel serbatoio di stoccaggio, si è senza dubbio mescolata con l'acqua stagnante che era ancora contenuta, con il risultato che l'acqua stagnante è stata distribuita in tutto l'edificio. Il materiale fecale degli uccelli, e l'uso dell'acqua da parte degli uccelli per bere o lavarsi, sono state delle possibili fonti di contaminazione iniziale.

Il nuovo fluire dell'acqua nei serbatoi di stoccaggio ha ripulito i serbatoi ed ha apportato cloro fresco alle aree più basse dei serbatoi. L'attività del flusso e il cloro sarebbero stati sufficienti a ridurre la concentrazione di alghe nel serbatoio così che il campionamento successivo per ricerca delle alghe è stato negativo.

### **Studi supplementari**

Sono state raccomandate aree di campionamento supplementare, perché esse potrebbero fornire la verifica della contaminazione transitoria ipotizzata: un campione di acqua da una stanza della residenza che era stata libera il 5 luglio potrebbe mostrare contaminazione; recenti lavori di restauro hanno comportato la rimozione di un cucinino: la tubazione, se intatta, potrebbe anche essere un luogo ideale di campionamento dell'acqua; uno dei filtri dell'acqua dovrebbe essere campionato per verificare che non vi siano fonti di contaminazione algale.

### **Controllo e prevenzione**

L'11 luglio i residenti sono stati avvisati di non bere l'acqua della residenza fino a ulteriore avviso. Un dispensatore di bottiglie d'acqua da bere è stato messo a disposizione in ogni piano mentre era in atto la proibizione.

Il sistema a circuito aperto è stato rimpiazzato da un sistema a circuito chiuso. I filtri, la vasca di espansione e i due serbatoi di stoccaggio sul tetto sono stati sostituiti con un sistema completamente chiuso. E' stato raccomandato che una ulteriore clorazione fosse eseguita una volta che il nuovo sistema fosse stato installato, al fine di pulire il sistema di distribuzione idrico della residenza.

### **Comunicare i dati**

L'epidemia è stata pubblicata in *Morbidity and Mortality Weekly Report* (Vol. 40, N. 19).

### **10.3 Aggregazioni (clusters) di malattia**

Quando la presenza della malattia non è uniforme (ad esempio differenze sulle modalità di manifestazione della malattia sono osservabili fra gruppi di popolazione, regioni geografiche o periodi di tempo variabili) gli epidemiologi tentano di identificare gruppi di fattori o di eventi che possono spiegare le distribuzioni osservate. Analisi esplorative con l'uso di dati epidemiologici sono spesso conosciute come studi di "cluster" nei programmi di sanità pubblica. Molti di questi hanno programmi per la registrazione di raggruppamenti di malattie. La chiave per valutare segnalazioni di cluster di malattia sta nel determinare se la presenza del caso all'interno di una certa località è più elevata di quanto ci si sarebbe aspettato di norma. L'aspetto spazio dei casi all'interno di un'area geografica, l'aspetto tempo nella manifestazione dei casi e, in qualche caso, l'aspetto spazio - tempo, sono presi in esame per provare che la distribuzione dei casi non è casuale ed è potenzialmente il risultato di una esposizione ambientale pericolosa.

Un'indagine "cluster" non è un tipo distinto di progetto di studio (vedi Capitolo 6). Piuttosto si riferisce all'uso di metodi epidemiologici per indagare se vi sia una elevata incidenza o prevalenza di malattia nel tempo e nello spazio. Una indagine "cluster" si differenzia da una indagine "epidemia" solo in quanto quest'ultima tende a coinvolgere cambiamenti improvvisi o acuti nell'incidenza del risultato sanitario.

La maggior parte degli studi di cluster sono indagini su piccole aree coinvolgenti un numero molto piccolo di casi (Thacker, 1989). Questi piccoli numeri rendono l'analisi dei dati molto difficile. Sono stati sviluppati vari metodi statistici specializzati per l'analisi di cluster di malattia (Aldrich *et al.*, 1990; CDC, 1990). Comunque, l'applicazione di tecniche statistiche non offre una soluzione semplice per la valutazione di cluster di malattia. Tecniche statistiche possono, in ogni caso, aiutare a decidere quali segnalazioni di cluster dovrebbero essere indagate e in quale ordine. Sono disponibili pacchetti statistici computerizzati per analisi statistiche (Aldrich & Griffith, 1993).

Se i cluster sono indagati regolarmente, dovrebbe essere preso in considerazione lo sviluppo di un protocollo. Questo aiuterà ad assicurare che tutte le segnalazioni di cluster siano trattate allo stesso modo. Un protocollo, quando combinato con tecniche statistiche, può anche aiutare a creare delle priorità fra le segnalazioni. Se le segnalazioni di cluster di malattia aumentano di numero, si dovrebbe prendere in considerazione una strategia di sorveglianza, che dovrebbe consistere nel monitoraggio sistematico dei caratteri della malattia per scoprire aggregazioni di casi non usuali, prima che si presentino essi stessi come veri cluster. È stato proposto il monitoraggio di eventi sanitari sentinella di potenziale esposizione a sostanze pericolose nell'ambiente (Rothwell *et al.*, 1991).

### **10.4 Indagini specifiche sull'impatto sanitario dell'inquinamento locale**

Talvolta sono richieste indagini epidemiologiche su popolazioni in specifiche località per le quali si conosce, o si sospetta, una contaminazione con un inquinante specifico (vedi paragrafo 2.1, che tratta il contesto per indagini epidemiologiche, come pure paragrafo 8.7, per le indagini in comunità che sono allarmate per pericoli ambientali).

Esse possono essere intraprese:

- per assicurare o verificare la conformità con programmi stabiliti di ricerca epidemiologica;
- per dissipare preoccupazioni espresse da una comunità o un gruppo che si considera a rischio, o per fornire una prova di supporto a tali preoccupazioni;
- per far progredire la conoscenza scientifica.

L'esatta natura di un'indagine di epidemiologia ambientale sito-specifica sarà determinata dagli obiettivi dell'indagine e dalla natura delle preoccupazioni della comunità. Il progetto di una tale indagine sarà molto differente da quello di una indagine sulla malattia, dato che partirà

dall'esposizione piuttosto che dalla malattia. Il ricercatore deve includere le seguenti domande nel protocollo epidemiologico:

- Quale è attualmente la conoscenza sulla natura ed estensione del rischio ambientale subito dalla popolazione in questione? Ad esempio, se si è avuta esposizione a sostanze tossiche, quali sostanze sono state rilasciate nell'ambiente, a quali livelli di contaminazione, quali matrici ambientali sono state contaminate, e che cosa si conosce riguardo agli effetti sulla salute dei contaminanti?
- Quale popolazione è a rischio come risultato dell'esposizione al pericolo ambientale? Vi sono alcuni gruppi all'interno di questa popolazione che possono essere particolarmente suscettibili (es. bambini)?
- Sarà possibile ottenere stime o misure dei livelli di esposizione al pericolo ambientale in esame?
- La popolazione o la comunità del sito in esame come sarà coinvolta nell'espletamento dell'indagine epidemiologica? (Una indagine sito - specifica deve coinvolgere la popolazione se si vuole ricevere il suo appoggio. Inoltre, tale coinvolgimento accrescerà la credibilità dei dati dello studio).
- Date le condizioni ambientali e le preoccupazioni per la salute della popolazione del luogo oggetto di indagine, quale tipo di proposta di studio (es. di coorte, trasversale) sarà più appropriato?

Evidentemente, non è una questione semplice determinare se un sito debba essere o no il soggetto di una indagine di epidemiologia ambientale. Se svariati siti devono essere presi in considerazione per lo studio (come in un ampio programma che sceglie siti per una indagine potenziale), il processo di selezione diventa anche più complesso.

### **Valutazioni di salute pubblica**

Negli USA, ATSDR ha sviluppato il concetto di "valutazione di salute pubblica" (ATSDR, 1992b). L'Agenzia definisce una valutazione di salute pubblica come una valutazione di dati e informazioni in relazione a sostanze pericolose nell'ambiente, impegnandosi a:

- valutare ogni impatto attuale o futuro sulla salute pubblica;
- sviluppare consigli sulla salute o altre raccomandazioni;
- identificare studi o attività necessari per valutare e mitigare o prevenire effetti dannosi per la salute umana.

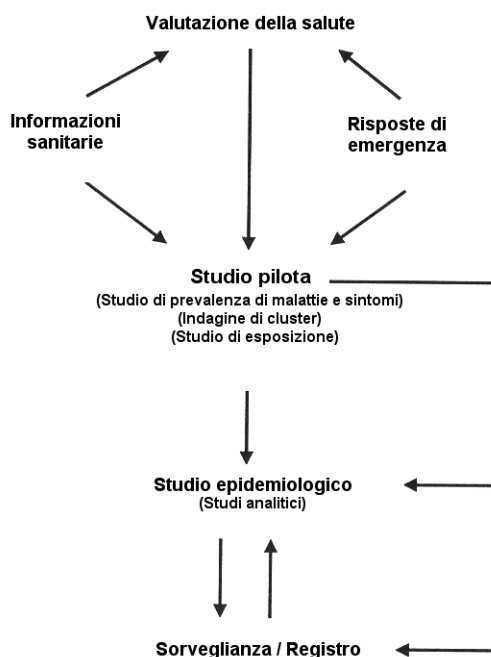
Per ATSDR, una valutazione dell'igiene pubblica rappresenta lo sforzo iniziale per catalogare un sito inquinato pericoloso (ATSDR, 1992b), ma più generalmente una valutazione della salute pubblica può essere il primo di una sequenza di eventi che portano a una indagine epidemiologica di sito (vedi Figura 10.3). Le varie componenti di una valutazione della salute sono mostrate nella Fig. 10.4.

Le valutazioni della salute pubblica di ATSDR sono attualmente basate su tre fonti chiave di informazione:

- dati di contaminazione ambientale (es. dati sui livelli di contaminanti nell'acqua di falda o nell'aria);
- dati degli esiti sulla salute (es. tumori o tassi di incidenza di malformazioni alla nascita);
- informazioni su preoccupazioni per la salute che emergono dalla comunità (es. informazioni provenienti dagli operatori della sanità locale riguardo inusuali aspetti di morbosità).

Dati sulla salute comunitaria possono includere informazioni preziose sullo stato di salute di base di persone che vivono vicino a siti specifici. Sebbene informazioni sulle preoccupazioni sulla salute della comunità possano non contribuire a determinare correlazioni causali, esse possono indicare appropriate azioni di controllo della salute.

**Figura 10.3** Una valutazione della salute pubblica può essere il primo di una sequenza di eventi che portano ad una indagine epidemiologica



Fonte: ATSDR, 1992b.

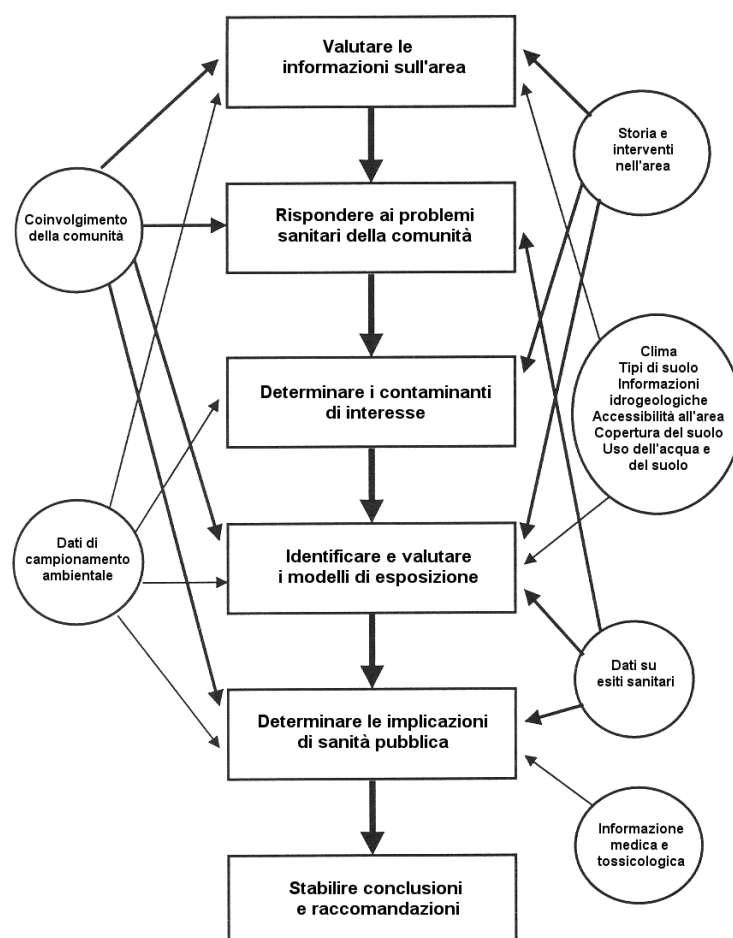
### Categorie di pericolo per la salute

Nella sua valutazione della salute pubblica, ATSDR classifica la minaccia posta da un particolare sito inquinato pericoloso in base alle seguenti cinque categorie di pericolo (ATSDR 1992b):

1. Pericolo urgente per la salute pubblica - sito per il quale anche un breve periodo di esposizione rappresenterebbe un serio pericolo per la salute.
2. Pericolo per la salute pubblica - sito per il quale un'esposizione per un lungo periodo rappresenterebbe un pericolo per la salute.
3. Pericolo per la salute pubblica indeterminato - siti per i quali l'informazione è incompleta.
4. Pericolo per la salute pubblica non evidente - siti per i quali l'esposizione umana alle matrici ambientali contaminate sta avvenendo o è avvenuta nel passato, ma a livelli che non rappresentano un pericolo per la salute.
5. Nessun pericolo per la salute pubblica - siti che non pongono pericoli per la salute pubblica.

Un sito è posto in una di queste categorie sulla base di un giudizio da parte di un gruppo di esperti di sanità ambientale, usando criteri di peso-della-prova. Come tale, la determinazione non è basata su una metodologia formale, quantitativa, di valutazione del rischio (ATSDR,1992b). Classificando i siti in base al pericolo per la salute umana essi consentono a un'agenzia o a un team investigativo di indirizzare risorse e sforzi di programma dove essi sono più necessari.

**Figura 10.4 Le diverse componenti di una valutazione della salute pubblica**



Fonte: adattato da ATSDR, 1992b

### 10.5 Importanza della comunicazione

Gli epidemiologi dovrebbero comunicare i loro risultati a coloro che operano nell'ambiente e che hanno responsabilità nella gestione dell'ambiente e nello sviluppo delle politiche, come pure alla comunità scientifica e al pubblico. Come detto nel Capitolo 8, dovrebbe essere preparata una relazione in accurato linguaggio scientifico che illustri i risultati dello studio epidemiologico. La relazione dovrebbe descrivere scrupolosamente lo scopo dell'indagine, i metodi usati, i dati e la loro interpretazione. La relazione dovrebbe essere revisionata da soggetti dello stesso livello dei ricercatori, prima di essere messa a punto, per assicurare che la presentazione sia chiara e scientificamente valida. Il progetto di studio, i metodi di raccolta dei dati, i metodi statistici ecc., dovrebbero già essere stati revisionati dai colleghi e da altri esperti allo stadio di progettazione (vedi Capitolo 8).

Inoltre, al fine di curare un testo definitivo dello studio utile per un riferimento futuro, gli epidemiologi dovrebbero sottoporre i loro dati per una revisione a riviste specialistiche, per la pubblicazione. I lavori pubblicati forniscono una preziosa informazione per le autorità legiferanti o sanitarie nazionali e internazionali che sono addette a fissare gli standard di esposizione o le linee guida su specifici pericoli ambientali. In questo contesto, dovrebbe essere incoraggiata la pubblicazione non solo di queste relazioni, che descrivono associazioni statisticamente "positive" fra pericoli ambientali ed esiti sulla salute umana, ma anche di quelle che descrivono "profili negativi".

Può anche essere opportuno preparare una presentazione semplificata dei risultati che possa essere facilmente compresa dai politici, dal pubblico e dai mass media (IPCS, 1983). Dato che quest'ultima presentazione è destinata ad un pubblico non specializzato, e pertanto non includerà tutti i dettagli tecnici dello studio, il rischio di una cattiva interpretazione è elevato. Ogni materiale scritto per la diffusione al pubblico dovrebbe pertanto essere semplificato direttamente dagli scienziati ed epidemiologi che sono stati coinvolti nello studio. Una tale presentazione può avere bisogno di rendere esplicite le limitazioni dell'approccio epidemiologico e di raccogliere informazioni supplementari da altri studi, prima che siano messe a punto le conclusioni.

I responsabili dell'ambiente e i decisori politici sono sempre più richiamati da obblighi legislativi e dal pubblico a tener sotto controllo i rischi ambientali. La pressione sulle loro azioni è spesso enorme. Inoltre, le loro decisioni invariabilmente hanno, sotto certi aspetti, un impatto sulla salute umana. I dati epidemiologici, come descritti in lavori sottoposti a revisione preparati da ricercatori di uno studio, possono fornire un sostanziale contributo a costruire una base scientifica per lo sviluppo di regolamenti governativi, linee guida e politiche relative a pericoli ambientali.

### **Comunicare con il pubblico**

I dati epidemiologici di studi sui pericoli ambientali devono essere comunicati in modo efficace al pubblico. Questo è particolarmente importante per quel che riguarda una indagine che coinvolga comunità che abbiano espresso preoccupazione per presunti cluster di effetti dannosi per la salute. Epidemiologi e scienziati avranno la necessità di stabilire un dialogo con tali comunità e con responsabili della sanità e dell'ambiente che siano ritenuti essere informati sulle condizioni e le preoccupazioni della comunità. Tale contatto può essere sviluppato lavorando con i media locali, al fine di rendere nota la presenza di ricercatori sanitari.

La US Environmental Protection Agency (USEPA) ha sviluppato un set di “ Regole cardine della comunicazione del rischio” che potrebbero essere adottate da parte dei ricercatori al momento di iniziare e implementare le indagini epidemiologiche e per presentare i loro dati (Tabella 10.2). Un ruolo particolarmente importante, ma che tuttavia è spesso dimenticato, riguarda la necessità di valutare l'efficacia di una particolare comunicazione. Ad esempio: la comunicazione ha raggiunto il gruppo di ascoltatori desiderato e ha avuto il risultato inteso? Se no, perché no?

Una valutazione dell'efficacia di una particolare comunicazione sul rischio per la salute (cioè quanto bene i destinatari previsti hanno compreso il messaggio) può essere svolta per mezzo di una intervista strutturata - per lettera o per telefono - di un campione delle persone che hanno ricevuto la comunicazione. Una intervista strutturata può essere anche condotta con un “focus group” (cioè un campione di ascoltatori mirati). In questo caso, un campione di ascoltatori bersaglio è portato ad essere intervistato contemporaneamente.

**Tabella 10.2 Regole cardine della comunicazione del rischio**

- 
- Accettare e coinvolgere il pubblico come partner legittimo
  - Pianificare con cura e valutare gli sforzi
  - Ascoltare le preoccupazioni specifiche del pubblico
  - Essere sinceri, franchi e aperti
  - Coordinarsi e collaborare con altre fonti credibili
  - Andare incontro alle necessità dei mass media
  - Parlare chiaramente e con partecipazione

---

*Fonte: USEPA, 1988*

### **Partecipazione della comunità**

Un'altra importante applicazione dei principi di comunicazione è quella di incoraggiare e facilitare il coinvolgimento della comunità nelle indagini sulla salute. I ricercatori dovrebbero prendere in considerazione la costituzione di una commissione di assistenza alla comunità locale (CAP) che rappresenti gli interessi della comunità stessa. La decisione se fare o no una CAP sarà determinata da certi fattori come il livello di preoccupazione della comunità, o considerazioni di politica locale e di risorse disponibili. La creazione delle CAP e la collaborazione con esse possono essere facilitate seguendo regole della comunicazione del rischio presentate nella Tabella 10.2.

Comitati di assistenza alla comunità in genere comprendono attivisti ambientali, responsabili eletti, medici locali, agenzie sanitarie locali, leader religiosi, insegnanti e rappresentanti dell'industria. I comitati forniscono un forum per esprimere le preoccupazioni sulla salute da parte dei cittadini locali e per la comunicazione dei protocolli e dei dati dello studio proposto. Quando devono comunicare con i comitati della comunità, gli epidemiologi devono evitare di diffondere informazioni (es. attraverso questionari di sorveglianza formulati in modo improprio) che potrebbe influenzare l'esito di un'indagine.

## 11 EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE PER LA POLITICA E LA GESTIONE

### *Obbiettivi didattici*

- Capire come le informazioni epidemiologiche sono usate nell'ambito delle politiche inerenti la salute e l'ambiente.
- Essere capaci di descrivere gli usi del risk assessment (valutazione del rischio) e le sue fasi principali.
- Capire come le informazioni epidemiologiche vengono utilizzate nel campo della regolamentazione e gestione ambientale.

### **11.1 Uso delle informazioni epidemiologiche nella politica e nel governo**

Il Capitolo 1 di questa pubblicazione inizia con la descrizione del ruolo dell'epidemiologia nella politica e nella gestione della salute e dell'ambiente. Ciò al fine di far comprendere il legame esistente tra la realizzazione di studi di epidemiologia ambientale e l'utilizzo delle informazioni che ne derivano per prevenire e gestire le condizioni di salute nella società. Per proteggere la popolazione dagli effetti dell'inquinamento ambientale, gli amministratori e i legislatori in materia ambientale devono avere informazioni scientifiche affidabili sul legame tra l'esposizione umana e le malattie di origine ambientale. L'epidemiologia è la disciplina scientifica centrale nel processo di produzione dei dati per intraprendere azioni e decisioni di salute pubblica (IOM, 1988). La più importante innovazione in sanità pubblica ed ambientale del 20° secolo, ad esempio, è stata la disinfezione delle forniture di acqua potabile. L'adozione di questa misura è stata il risultato di studi di epidemiologia ambientale iniziati nel 1840, che indicavano come le acque fossero il vettore principale di numerose malattie ad effetto letale. Molto tempo più tardi è stata scoperta l'eziologia microbica di queste malattie (per i batteri la scoperta risale all'ultimo decennio dell'Ottocento, per i virus agli anni compresi tra il 1950 e il 1960). Nella stessa maniera, gli studi di epidemiologia ambientale indicarono il coinvolgimento del consumo di pesce nella malattia di Minamata, molto tempo prima che fosse scoperto che il pesce della baia di Minamata era stato contaminato con il metil-mercurio (WHO, 1990). Questi due avvenimenti illustrano l'importanza dei dati epidemiologici a supporto del processo decisionale.

Un esempio ulteriore è relativo alle azioni intraprese negli Stati Uniti per prevenire l'esposizione infantile al piombo ambientale. Per quanto fosse nota da tempo la tossicità legata alle alte esposizioni a piombo, negli individui adulti e nei bambini, indagini epidemiologiche in numerosi paesi, durante il periodo compreso tra gli anni 1970 e 1980, rilevarono che l'esposizione a bassi livelli di piombo, una volta considerati non pericolosi, causava in realtà nei bambini piccoli, fra l'altro, riduzione dell'intelligenza, ritardo dello sviluppo cognitivo e danni all'udito (ATSDR, 1988). Inoltre, le indagini mostrarono come l'esposizione materna a piombo durante la gravidanza avesse effetti dannosi sul feto (ATSDR, 1988).

Una volta che questi risultati epidemiologici sono stati resi noti ai decisori, le politiche sanitarie si sono dovute orientare verso la riduzione dell'esposizione dei bambini piccoli al piombo ambientale e, idealmente, verso la prevenzione della esposizione e della tossicità dovute al piombo. Negli Stati Uniti la legislazione nazionale, supportata dalla legislazione locale, si è sviluppata come risultato diretto dell'accertamento epidemiologico che l'esposizione a piombo è pericolosa per la salute dei bambini piccoli e per il feto. Fra le diverse leggi e regolamenti si trovano azioni per rimuovere il piombo dalle case vecchie che contengono pitture al piombo, screening e sorveglianza dei bambini ad alto rischio di tossicità da piombo; ricerche sui metodi per misurare l'assorbimento del piombo ed interventi educativi per informare il pubblico ed i medici sulle misure da adottare per prevenire la tossicità da piombo nei bambini. E' emerso che per prevenire la tossicità da piombo nei bambini piccoli è necessaria una politica di promozione della salute.



I dati epidemiologici forniscono un'evidenza diretta delle esposizioni umane e dei conseguenti effetti sanitari. Una massa consistente dei dati in epidemiologia ambientale è usata per determinare se una associazione è di tipo causale. Gli stessi dati sono poi usati per guidare i decisori nello sviluppo di strategie preventive o riparatrici e, infine, per valutare le politiche preventive o riparatrici realizzate. Poiché i dati sono ottenuti dalla popolazione in situazioni reali, i risultati non sono soggetti alle incertezze proprie degli studi sugli animali, quali quelle inerenti le estrapolazioni da specie a specie, dalle alte alle basse dosi o da effetti acuti a effetti cronici. Inoltre, l'evidenza raccolta negli uomini ha una innata specificità e pertinenza, che tende a garantirne una accettazione ampia fra gli elettori: il complesso dei dati epidemiologici fornisce informazioni sia qualitative che quantitative, che servono come base scientificamente credibile per costruire le politiche ambientali e per gestire le decisioni.

L'epidemiologia è stata usata in alcune aree della politica sanitaria, quali la valutazione del rischio e la predisposizione di standard, come descritto nei prossimi due paragrafi. Comunque l'epidemiologia ha avuto un impatto più limitato sulla politica ambientale e sanitaria di quello che potrebbe derivare dalla diretta pertinenza degli studi sull'uomo descritti sopra. Una ragione è l'attribuzione di responsabilità ad enti ambientali regolamentativi (o a ministeri) per il controllo e la prevenzione dei rischi ambientali. Ciò porta a stabilire regolamenti ambientali che sono basati principalmente su dati di natura tossicologica, talora congiunti con una limitata quantità di dati epidemiologici. Le norme hanno il fine di limitare l'esposizione umana per i rischi regolamentati. Ciò che spesso manca in questo caso sono dati epidemiologici che forniscano una stima di rischio basata sulla popolazione per i fattori regolamentati. Da un punto di vista di politica pubblica, questo solleva numerose importanti questioni. Ad esempio, le attività regolatrici dovranno essere limitate o semplicemente ritardate per riuscire a raccogliere dati epidemiologici utili a proporre stime di rischio e livelli di esposizione più precisamente calibrati? Viceversa, dovranno essere stabiliti comunque degli standard regolatori, pur in assenza di qualsiasi dato epidemiologico a sostegno della presunzione di un effetto sanitario dannoso sulla popolazione? Queste sono domande difficili le cui risposte finali sono strettamente legate alla politica pubblica.

Infine, viene sempre più riconosciuto l'importante ruolo che l'epidemiologia può giocare nel valutare gli impatti della politica e dei programmi ambientali e sanitari in corso, nonché nel predire gli impatti futuri dei programmi proposti. Il paragrafo 11.4 tratta le aree di crescita o le applicazioni future della epidemiologia ambientale in ambito politico e gestionale.

## **11.2 Valutazione del rischio (*risk assessment*)**

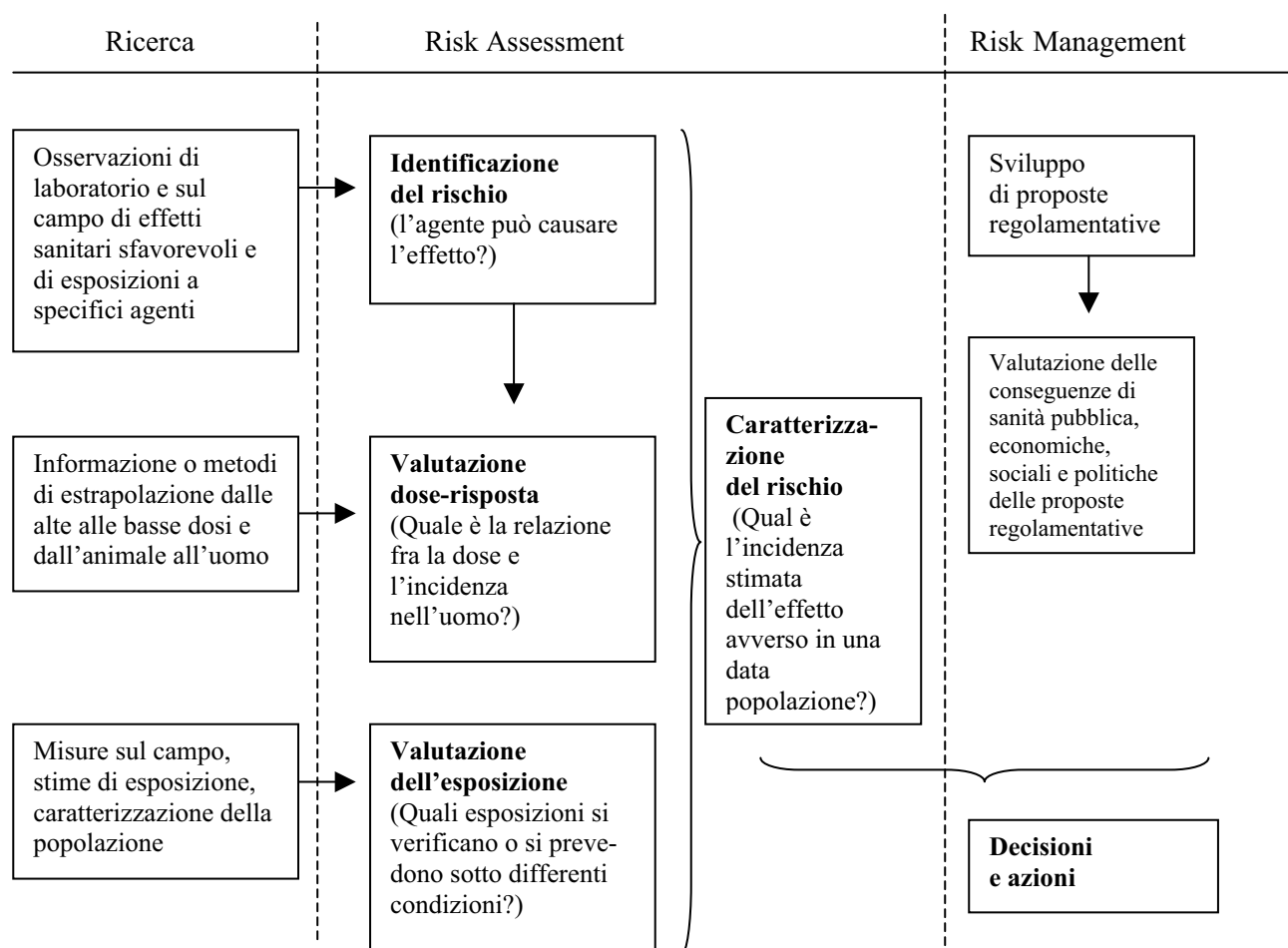
Gli anni '70 furono un periodo di aumentata preoccupazione generale sugli effetti della tecnologia nell'ambiente. Molti governi sono stati sollecitati dai cittadini a mettere in atto politiche di regolamentazione, sulla base delle evidenze scientifiche emerse sui possibili effetti sulla salute dell'uomo dei numerosi agenti chimici e microbiologici. Furono istituiti nuovi programmi governativi per identificare e regolare questi fattori di rischio per l'uomo e per l'ambiente. Per aiutare questa attività decisionale fu sviluppato il processo di "valutazione del rischio", come mezzo per identificare e stimare i rischi per la salute delle popolazioni umane. Il termine "valutazione del rischio", usato per decenni in sanità pubblica, assunse un significato specifico nel processo regolatore ambientale. Nella messa a punto di regolamentazioni, la valutazione del rischio è usata come una base fattuale per definire gli effetti sanitari dell'esposizione all'inquinante di interesse. E' distinta dalla gestione del rischio (*risk management*), che è il processo di verifica delle politiche alternative e di selezione dell'azione regolatrice più appropriata.

### **Inquadramento della valutazione del rischio**

La valutazione del rischio può essere definita come "la caratterizzazione del potenziale effetto sanitario dannoso dell'esposizione umana ad un fattore di rischio ambientale" (Aldrich & Griffith, 1993). In altre parole, essa produce una stima quantitativa del rischio dell'uomo per un fattore specifico, basata sulla disponibilità di dati di esposizione. I quattro momenti fondamentali della valutazione del

rischio sono l'identificazione del rischio; la valutazione dell'esposizione; la valutazione della dose-risposta; la caratterizzazione del rischio. Il processo di valutazione del rischio è mostrato nella Figura 11.1, che è simile alla Figura 1.1 (Capitolo 1).

**Figura 11.1 Ruolo della ricerca epidemiologica nel processo di valutazione del rischio**



Fonte: NRC, 1983

**L'identificazione del rischio** è il processo che determina se un'esposizione a un agente ambientale sia associata a un effetto sanitario dannoso. **La valutazione dell'esposizione** descrive o stima l'entità, la durata e la via di esposizione. Una volta che il fattore di rischio è stato identificato, **la valutazione dose-risposta** determina se l'effetto dannoso aumenta con il crescere dell'esposizione. Il rischio è allora caratterizzato: ciò significa stimare l'incidenza di un effetto sanitario dannoso che potrebbe essere anticipata a seguito dell'esposizione a quel fattore di rischio. **La caratterizzazione del rischio** si effettua combinando le informazioni della valutazione dose-risposta e della valutazione dell'esposizione. Per una spiegazione dettagliata delle varie fasi vedere Canter, 1989; Aldrich & Griffith, 1993; e IPCS, 1994.

#### Usi del risk assessment

La Environmental Protection Agency americana (1984) ha sottolineato gli usi più importanti del risk assessment (Tabella 11.1). In primo luogo, il risk assessment pone in grado i manager di scegliere le priorità e di migliorare il processo decisionale, producendo, così, politiche di riduzione coerente del rischio.

In secondo luogo, il risk assessment permette alla comunità scientifica di identificare importanti mancanze di dati. Può, inoltre, contribuire ad assegnare le priorità nelle agende della ricerca e a dare forza, in conseguenza, ad una particolare disciplina scientifica. Per esempio, l'uso per il risk asses-

sment dei dati di farmacocinetica e di farmacodinamica ha aumentato la ricerca in entrambe queste aree. Come risultato, la nostra conoscenza delle sostanze chimiche è aumentata a beneficio sia del risk assessment sia dell'informazione sui meccanismi biologici associati con l'esposizione alle sostanze chimiche.

**Tabella 11.1 Usi del risk assessment**

---

In ambito gestionale per:

- assegnare priorità
- migliorare i processi decisionali
- produrre politiche di riduzione del rischio più efficienti e consistenti

In ambito scientifico per:

- identificare le carenze di dati
  - dare priorità alla ricerca
  - promuovere lo sviluppo di nuovi metodi
- 

### **Informazioni epidemiologiche e risk assessment**

I dati epidemiologici possono contribuire al risk assessment. Tuttora gran parte del risk assessment fa affidamento solamente su dati animali, perché sarebbe virtualmente impossibile ottenere dati sull'uomo, anche solo per una piccola percentuale delle 65.000 sostanze chimiche presenti attualmente nel nostro ambiente, e perché l'esito finale di interesse (es. il cancro) ha spesso un lungo periodo di latenza. Per diversi agenti chimici sono comunque disponibili dati epidemiologici, che sono stati usati per il risk assessment, e, come per i dati animali, essi devono essere prima di tutto valutati qualitativamente.

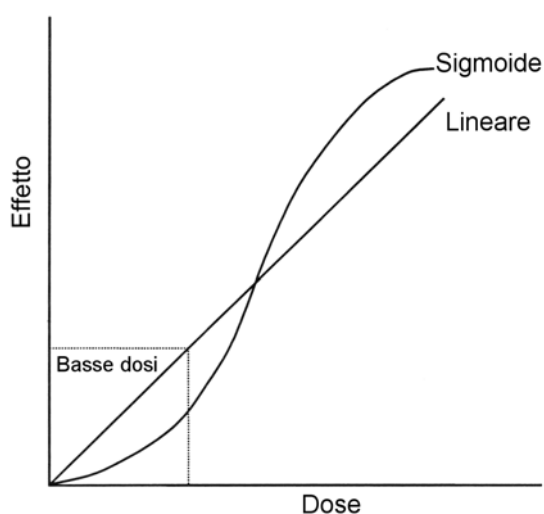
Criteri per valutare qualitativamente i dati sull'uomo sono, ad esempio quelli usati dall'International Agency for Research on Cancer (IARC). La IARC, quando valuta i dati sull'uomo, usa quattro criteri per classificare i composti come cancerogeni (IARC,1991). Il primo criterio fa attenzione al tipo di disegno dello studio. Un disegno analitico, quale quello di coorte o di caso-controllo, è considerato di maggior valore di uno descrittivo, in relazione alla sua specificità nel testare le ipotesi. Il secondo criterio considera la qualità degli studi, esaminando problemi di bias, di confondimento e di casualità nell'interpretazione dei risultati dello studio. Il terzo criterio valuta il rischio relativo ed il rischio assoluto in rapporto alla lunghezza e durata dell'esposizione e ad altre variabili temporali relative all'esposizione e alla malattia. L'ultimo criterio riguarda la comparazione dell'intero corpo di evidenza epidemiologica con i criteri di causalità, che includono: la potenza dell'associazione, la coerenza dell'associazione, la relazione temporale tra esposizione ed effetto, il gradiente biologico dell'associazione e la plausibilità biologica (Beaglehole *et al.*,1993; Landrigan, 1994) (la causalità è trattata anche nel Capitolo 3).

Una volta valutati qualitativamente, i dati epidemiologici devono essere analizzati quantitativamente. Questo processo può richiedere una estrapolazione dalle alte alle basse dosi di esposizione. I dati epidemiologici sottoposti a valutazione possono essere stati raccolti in ambienti lavorativi, con alti livelli di esposizione al fattore di rischio in esame. La valutazione del rischio può essere interessata alla esposizione della popolazione generale, che probabilmente è molto più bassa di quella degli studi in ambienti lavorativi. Perciò chi effettua il risk assessment deve cercare di associare effetti da alti dosaggi (studi occupazionali) con esposizione a bassi dosaggi (maggioranza della popolazione). I risultati del risk assessment sono spesso controversi in questa situazione, perché gli scienziati non sono d'accordo circa gli effetti delle alte dosi sul metabolismo e, di conseguenza, sui meccanismi d'azione (Canter, 1989). Un'altra preoccupazione è che i modelli dose-risposta, sviluppati per livelli di alte dosi, possono produrre risultati diversi quando sono usati per stimare livelli di basse dosi. Come mostra la Figura 11.2, le curve dose-risposta derivate con differenti modelli divergono sostanzialmente nella valutazione alle basse dosi. Perciò l'estrapolazione a basse dosi deve essere più che un esercizio di a-

dattamento della curva e devono essere tenute in conto le considerazioni sulla plausibilità biologica. Chi valuta il rischio in primo luogo si trova a lavorare sulla stima dell'incidenza del cancro in relazione all'esposizione ambientale. Da quando si è ipotizzato che il cancro derivi da un'unica cellula (Yunis & Hoffman, 1985) e la filosofia prevalente è quella che "ogni lesione cellulare produce danno" (Meselson, 1980), chi valuta il rischio opera sul concetto di "non soglia", o livello zero, e quindi usa un modello di estrapolazione lineare senza soglia. I modelli, tuttavia, possono essere anche non lineari (basati sulla farmacocinetica e sulle capacità genetiche della cellula).

Nel modello di rischio deve essere considerato anche l'uso dei limiti di confidenza. I limiti di confidenza sono collocati su ognuno dei punti di dose-risposta ottenuti dai dati animali, allo scopo di ridurre l'incertezza che risulta dall'uso di campioni di piccole dimensioni. Quando si esegue la regressione, si usano limiti di confidenza superiori al 95%; questi sono spesso molto ampi a causa della piccolezza del campione. Fissare i limiti di confidenza al 95% in un piccolo studio di popolazione risulta in una pendenza più ripida del modello di dose-risposta, e il suo uso è qualche volta criticato poiché produce una valutazione del rischio eccessivamente conservativa (Aldrich & Griffith, 1993). Benchè i dati sull'uomo possano essere usati per ridurre il potenziale di incertezza che è associato con il processo di estrapolazione, è chiaro che il tipo di modello scelto può avere un impatto significativo sulle decisioni normative e, conseguentemente, sui costi associati con la conformità. È anche vero che più numerosi sono gli studi epidemiologici e gli studi su differenti livelli di esposizione, più bassa è l'incertezza della valutazione del rischio.

**Figura 11.2 Modelli di estrapolazione a basse dosi**



### **Vantaggi e svantaggi della valutazione del rischio**

Dei vantaggi della valutazione del rischio si è estesamente trattato altrove (USEPA, 1984; Canter, 1989). Il vantaggio principale è quello che il processo di valutazione porta alla definizione del problema, giacché al decisore è richiesto di analizzarlo e di elencare tutti i maggiori fattori in gioco conosciuti. Questa analisi identifica le interazioni e le relazioni che possono esistere e riduce la probabilità di omettere informazioni pertinenti.

Un altro vantaggio è che la valutazione del rischio serve come guida per raccogliere i dati. Lo sviluppo o la scelta di un modello di analisi definisce il tipo di dati necessari; ciò permette di risparmiare tempo e risorse, minimizzando la raccolta di dati inappropriati o non necessari. Il processo di valutazione del rischio fornisce una struttura per valutare diversi problemi ambientali, permettendo perciò processi decisionali più coerenti. Poiché la valutazione del rischio è quantitativa, essa si presta alla messa a punto di standard o linee guida; fornisce un meccanismo per predire risposte a combinazioni di condizioni che cadono al di fuori dello spettro dei dati usati per la calibrazione del modello. I modelli di valutazione del rischio possono essere usati per valutare situazioni ipotetiche, alcune delle

quali possono essere condizioni associate con la gestione dei controlli o con la messa a punto di standard; possono essere usati anche per identificare gli obiettivi di riduzione del rischio all'interno della strategia di controllo dei livelli di inquinanti.

Lo svantaggio principale della valutazione del rischio è che le informazioni su cui possono basarsi le decisioni sono spesso inadeguate. Poiché il processo di decisione non può aspettare, la mancanza di informazione può essere colmata per mezzo dell'inferenza e delle supposizioni, ma queste non possono essere valutate al pari dei fatti. Queste inferenze inevitabilmente richiamano considerazioni scientifiche e politiche. Un altro svantaggio della valutazione del rischio è la sua natura probabilistica. Il rischio unitario, basato direttamente sulla pendenza del modello, si riferisce all'incremento di rischio per unità di esposizione. Come già accennato, i limiti di confidenza intorno alla stima possono condurre ad una stima molto conservativa, che può essere non realistica. Queste stime possono anche essere inferiori al livello tipico di base o agli attuali limiti di rilevamento analitico dell'agente nell'ambiente.

Infine, si deve sapere che il risultato ottenuto non è applicabile a ciascun individuo. Questo non è necessariamente uno svantaggio, ma ne può derivare piuttosto un uso erraneo del risultato. La valutazione del rischio stima i rischi nella popolazione; poiché l'epidemiologia è basata sulla popolazione, essa è importante per il processo di valutazione del rischio (Aldrich & Griffith, 1993).

#### **Esempio di studio: il fumo passivo**

La Environmental Protection Agency statunitense (USEPA) rese pubblico un risk assessment sugli effetti respiratori associati con il fumo di fumo passivo (USEPA, 1992a). La maggior parte delle informazioni prese in esame erano dati epidemiologici. Sono stati valutati molti esiti sanitari, ma per le finalità di questo caso in studio viene presentata solo l'analisi sul cancro al polmone.

#### **Valutazione dell'esposizione**

Molti studi hanno dimostrato che il fumo passivo (Environmental Tobacco Smoke, ETS) è la maggior fonte di inquinamento per l'aria indoor (NCR, 1986). Studi di monitoraggio personale hanno misurato i livelli di nicotina e di particelle respirabili sospese (RPS) trovati nel ETS e in differenti ambienti indoor (Muramatsu *et al.*, 1984; Coultas *et al.*, 1990). I risultati di questi studi hanno mostrato chiaramente che l'esposizione a ETS, anche se di bassa frequenza, durata ed entità, può comportare valori di RSP e di nicotina eccedenti il livello di base. La cotinina nella saliva, nel sangue e nelle urine è un biomarcatore dell'esposizione a ETS (National Research Council, 1986) (vedere la Tabella 2.3 nel Capitolo 2). Gli studi che confrontano l'esposizione misurata tramite questionario con l'esposizione misurata attraverso la cotinina urinaria, trovano che un numero significativo di soggetti che dichiarano una non esposizione nel questionario risultano invece esposti quando si misura la cotinina nell'urina (Riboli *et al.*, 1990).

#### **Identificazione del rischio e dose-risposta**

L'identificazione del rischio è stata effettuata in due fasi: nella prima è stata valutata la relazione tra fumo e cancro del polmone. Il rapporto dell'USEPA concludeva che c'era un'associazione causale inequivocabile tra il fumo di tabacco e il cancro al polmone nell'uomo, con una relazione dose-risposta che si estendeva al di sotto dei livelli più bassi di esposizione osservata. È inoltre stata citata la concomitante evidenza, che deriva dai test su animali e dagli studi in vitro, sulla cancerogenesi del fumo e dell'ETS, a sostegno della plausibilità che ETS sia un cancerogeno polmonare anche per l'uomo. Inoltre, gli studi con biomarcatori hanno verificato che in non fumatori il fumo passivo induce un'assunzione riconoscibile dei costituenti del fumo di tabacco (vedere il paragrafo sulla valutazione dell'esposizione). Importanti evidenze epidemiologiche dimostravano che il rischio di cancro del polmone aumentava nei non fumatori esposti a livelli ambientali di ETS (Tabella 11.2). Non fu necessario per USEPA estrapolare dai test animali ad alte dosi, né dagli alti livelli di esposizione occupazionale, per fare una stima del rischio per l'uomo ai livelli di esposizione ambientali. I soli dati epidemiologici sono stati in questo caso sufficienti per valutare gli effetti sanitari dell'esposizione a ETS.

**Tabella 11.2 Misure statistiche di studi singoli e aggregati per paese, correzione per misclassificazione dei fumatori, qualità dello studio.**

Paese (Autore) <sup>1</sup>	Potenza	P (effetto)	P (trend)	RR	Intervallo di confidenza	Classe
Grecia (Kalandidi) 1990	0,39	0,02	0,04	1,92	(1,13, 3,23)	1
Grecia (Trichopoulos) 1981	0,45	0,01	<0,01	2,08	(1,31, 3,29)	2
<b>Grecia TUTTI</b>		<0,01		2,00	(1,42, 2,83)	
Hong Kong (Chan) 1982	0,43	0,5	*	0,74	(0,47, 1,17)	2
Hong Kong (Koo) 1987	0,43	0,06	0,16	1,54	(0,98, 2,43)	2
Hong Kong (Lam T.) 1987	0,73	<0,01	<0,01	1,64	(1,21, 2,21)	3
Hong Kong (Lam W.) 1985	0,39	<0,01	*	2,51	(1,49, 4,23)	4
<b>Hong Kong TUTTI</b>		<0,01		1,48	(1,21, 1,81)	
Giappone (Akiba) 1986	0,42	0,05	0,03	1,50	(1,00, 2,50)	2
Giappone (Hirayama) 1984	0,75	0,04	<0,01	1,37	(1,02, 1,86)	2
Giappone (Inoue) 1988	0,17	0,07	<0,03	2,55	(0,90, 7,20)	3
Giappone (Shimizu) 1988	0,37	0,39	*	1,07	(0,70, 1,67)	3
Giappone (Sobue) 1990	0,66	0,01	*	1,57	(1,13, 2,15)	4
<b>Giappone TUTTI</b>		0,01		1,43	(1,20, 1,71)	
USA (Brownson) 1987	0,15	0,28	*	1,50	(0,48, 4,72)	1
USA (Buffler) 1984	0,17	>0,5	*	0,70	(0,34, 1,43)	2
USA (Butler) 1988	0,18	0,17	*	2,01	(0,61, 6,73)	2
USA (Correa) 1983	0,22	0,09	0,01	1,90	(0,86, 4,15)	2
USA (Fontham) 1991	0,93	0,04	0,04	1,26	(1,01, 1,58)	2
USA (Garfinkel) 1985	0,60	0,15	<0,02	1,24	(0,88, 1,76)	2
USA (Garf coorte)	0,92	0,19	*	1,15	(0,88, 1,51)	3
USA (Humble) 1987	0,20	0,10	ns	1,98	(0,81, 4,95)	3
USA (Jannerich) 1990	0,44	>,50	*	0,78	(0,51, 1,16)	3
USA (Kabat) 1984	0,17	>,50	*	0,74	(0,28, 1,90)	3
USA (Wu) 1985	0,21	0,29	ns	1,31	(0,58, 2,92)	3
<b>USA TUTTI</b>		0,02		1,19	(1,04, 1,35)	
Scozia (Hole) 1989	0,09	0,26	*	1,97	(0,34, 11,67)	1
Inghilterra/Galles (Lee) 1986	0,20	0,50	*	1,01	(0,47, 2,15)	2
Svezia (Pershagen) 1987	0,45	0,22	0,12	1,17	(0,75, 1,87)	2
Svezia (Svensson) 1989	0,24	0,32	*	1,19	(0,62, 2,35)	3
<b>Europa dell'ovest TUTTI</b>		0,21		1,17	(0,84, 1,64)	
Cina (Gao) 1987	0,66	0,19	0,29	1,19	(0,87, 1,62)	3
Cina (Geng) 1988	0,32	0,01	<0,05	2,16	(1,21, 3,84)	4
Cina (Liu) 1991	0,18	>0,5	*	0,77	(0,35, 1,68)	4
Cina (Wu-Williams) 1990	0,89	>0,5	*	0,78	(0,63, 0,96)	4
<b>Cina TUTTI</b>		>0,5		0,95	(0,80, 1,12)	

<sup>1</sup> Si indica il primo autore del riferimento bibliografico (USEPA; 1992a)

La seconda fase della identificazione del rischio ha comportato una revisione di 30 studi su ETS e cancro del polmone. Gli studi furono valutati per confondimento, bias e associazione casuale. Sono state considerate le seguenti variabili confondenti: storia della malattia polmonare, storia familiare della malattia polmonare, fonti energetiche in uso per cucinare o per riscaldare, cucina con olio, fattori occupazionali e dietetici. Fatta eccezione per gli studi in Cina, non sono emerse indicazioni che il confondimento avesse un peso nell'associazione tra il cancro del polmone e ETS. In Cina l'uso di carbone per cucinare in casa è stato considerato un confondente nell'interpretazione di questi studi.

L'inferenza statistica per ognuno di questi 30 studi è stata valutata per potenza, effetto e trend. Una sintesi degli studi è presentata nella Tabella 11.2. Per aumentare la potenza, gli studi furono combinati per paese o regione geografica. I risultati degli studi combinati vennero comparati con i risultati degli studi singoli e fu concluso che il numero di effetti epidemiologici statisticamente significativi e il trend non potevano essere risultati attribuibili al solo caso.

La maggior preoccupazione riguardo ai bias fu quella della possibile misclassificazione dello stato di esposizione, di particolare importanza nella comparazione tra fumatori e non fumatori. La valutazione delle esposizioni pregresse suggerì che alcune misclassificazioni erano verosimilmente legate ai questionari. Il netto effetto del bias fumatori verso non fumatori potrebbe essere che l'associazione tra non fumatori ed ETS in parte è da attribuire al fumo attuale o precedente di alcuni dei soggetti. Gli studi furono quindi aggiustati per il bias dovuto alla misclassificazione dei fumatori; ciò ha generato un rischio relativo leggermente più basso, ma non ha intaccato le conclusioni globali sui singoli studi.

Venne anche esaminato il potenziale bias in relazione alla diagnosi dei casi, alla selezione del gruppo di controllo negli studi caso-controllo, alla raccolta dei dati negli studi di coorte ed al tipo di analisi usata. Basandosi sulla qualità dello studio, è stato fatto un ordinamento in quattro classi: gli studi della classe 1 avevano la qualità migliore; quelli inseriti nella classe 4 non furono inclusi in ulteriori analisi. L'analisi per mezzo di classi fornì un metodo per valutare gli studi, sia qualitativamente che quantitativamente. Come risultato di questo esercizio, il rapporto concludeva che altri tipi di bias non avevano avuto un effetto significativo sui risultati.

In più, gli studi considerati furono valutati usando sette criteri di causalità, simili a quelli riportati nel Capitolo 3 (relazione temporale, consistenza, forza, dose-risposta, specificità, plausibilità biologica e coerenza) (USEPA, 1989a). Bisogna considerare che gli studi di coorte - che rappresentavano la maggioranza - rispondevano al criterio di relazione temporale. Ciò è valido in particolare per gli studi appartenenti alla classe 1 e 2. Avendo aggiustato per i bias e valutato per il confondimento, la consistenza di una associazione significativa fu chiaramente evidente per gli studi in classe 1 e 2. La forza della osservazione era limitata dal basso rischio relativo, ma l'accorpamento degli studi o per paese o per classe aumentava la significatività statistica. Nei 14 studi che riportavano vari livelli di dose, i test statistici per il trend erano significativi (0.05) per otto di essi. Ciò rafforza la dose-risposta perché è inverosimile che questo possa essere il risultato di bias o di confondimento. La specificità non si applica all'ETS né a molti degli agenti ambientali studiati (motivo per cui non è stata inclusa nella Tabella 3.4). Poiché l'ETS è prodotto dal fumo di tabacco, è biologicamente plausibile che sia un cancerogeno per il polmone. La coerenza dei risultati derivati dall'analisi degli studi e la mancanza di argomenti contrari significativi sostengono l'associazione causale tra ETS e cancro del polmone.

#### **Caratterizzazione del rischio**

Il rapporto conclude che l'ETS è una causa del cancro del polmone nell'uomo. Il passo successivo fu quello di valutare la dimensione dell'impatto sanitario sulla popolazione degli Stati Uniti (US). I ricercatori usarono l'aumento del rischio relativo di cancro del polmone per le donne che non avevano mai fumato, ma che erano sposate a un fumatore, per estrapolarlo alla popolazione generale. Il numero totale di morti per cancro del polmone nelle femmine US, per tutte le cause, venne segmentato in relazione a: cause che non avevano rapporti con il fumo di tabacco; ETS di fondo; ETS del coniuge; da sempre fumatrici. La causa non legata al fumo di tabacco fu presa come rischio di base e tutti gli altri rischi furono stimati tenendo conto di questa. La mortalità del cancro del polmone stimata come dovuta a ETS nelle donne che non avevano mai fumato è risultata pari a circa 1.500 (1.030 dovuta al fondo + 470 da ETS del coniuge). Mettendo assieme i maschi che non avevano mai fumato e gli ex fumatori di entrambi i sessi si è ottenuta una stima addizionale di 3.060 morti per cancro del polmone (Tabella 11.3). Questi calcoli sono basati su stime numeriche soggette all'incertezza. Ulteriori calcoli rilevarono che il range della mortalità andava da 2.500 a 3.300 casi: il rapporto concludeva che si trattava di un range ragionevole. La confidenza di questi risultati fu giudicata da media a alta, a causa del gran numero di dati disponibili provenienti da vari studi sull'esposizione umana ai livelli reali di ETS.

**Tabella 11.3 Mortalità per cancro del polmone attribuibile a ETS negli Stati Uniti, al 1985, sulla base del rischio relativo associato di 11 studi**

Stato di fumatore	Sesso	Esposto a ETS del coniuge	Persone a rischio (x10 <sup>6</sup> )	Mortalità per cancro del polmone			
				ETS di fondo	ETS del coniuge	ETS totale	ETS totale per sesso e fumo
Non fumatore	F	No	12,92	410		410	1500
Non fumatore	F	Si	19,38	620	470	1090	
Non fumatore	M	No	9,93	320		320	500
Non fumatore	M	Si	3,13	100	80	180	
Ex fumatore	F	No	2,0	60		60	430
Ex fumatore	F	Si	6,7	210	160	370	
Ex fumatore	M	No	8,8	280		280	630
Ex fumatore	M	Si	6,2	200	150	350	(FS,M)
Totale			69.07	1,030	860	3060	3060

Fonte: USEPA, 1992a

### 11.3 Definizione degli standard

Uno dei campi più importanti in cui sono usate le informazioni epidemiologiche è quello della definizione degli standard. Bisogna sottolineare che i dati epidemiologici rappresentano solo uno dei numerosi fattori che devono essere presi in considerazione per sviluppare gli standard. Per qualsiasi standard in corso di implementazione, è verosimile che le informazioni scientifiche disponibili da tutte le fonti, inclusi la ricerca tossicologica, gli studi clinici, la sorveglianza epidemiologica ed il monitoraggio ambientale, non saranno sufficienti a derivare una perfetta relazione esposizione-effetto. Ed anche se tale relazione può essere costruita, il processo di definizione degli standard deve risolvere questioni politiche, sociali ed economiche, prima che lo standard possa essere proposto. Inoltre, nella definizione di uno standard, deve essere valutata sia l'accettazione sociale di un appropriato livello di rischio che le risorse nazionali necessarie per assicurare la conformità con lo standard (de Koning, 1989).

Ogni giudizio di valore - da farsi sulla base delle informazioni disponibili - è di responsabilità dei decisori politici e non degli scienziati, nel loro ruolo professionale. Il ruolo di un epidemiologo è quello di fornire i migliori dati e la migliore relazione esposizione-effetto possibile; nell'interpretarli deve indicare chiaramente dove si collocano i corrispondenti limiti di confidenza.

#### Fattori nella definizione degli standard e linee guida

Il primo passo per la definizione degli standard è la compilazione dei dati disponibili, che si realizza usualmente tramite un processo di risk assessment. Sebbene molti standard siano basati principalmente su dati animali, i risk assessment basati su dati epidemiologici hanno minori limitazioni e incertezze. La sensazione è che poche norme siano basate su dati epidemiologici; pur tuttavia, da una verifica delle norme ambientali dell'USEPA si ottiene una lista piuttosto grande di norme basate principalmente su dati umani (Tabella 11.4).



**Tabella 11.4 Inquinanti regolati dall'USEPA basati su dati provenienti da studi epidemiologici**

Inquinante	Effetto sanitario	Azione dell'Agenzia
Arsenico	Cancerogeno	A, C, F, R, T, W
Asbesto	Cancerogeno	A, C, R, W, X
Benzene	Cancerogeno	A, C, F, R, W,
Benzidina	Cancerogeno	A, C, R
Bis(cloro metil etere)	Cancerogeno	A, C, R,
Clorometil etere	Cancerogeno	A, C, R
Cromo	Cancerogeno	A, C, R, W
Emissioni di forno a carbone	Cancerogeno	A
Fumo passivo	Cancerogeno	A
Nichel	Cancerogeno	A, C
Cloruro di vinile	Cancerogeno	A
Cadmio	Renale	C, F, I, R, W
Monossido di carbonio	Cardiovascolare	N
Clordecone	Neurologico e riproduttivo	F
Clorpirifos	Neurologico	C, F, I, R
Dibromocloropropano	Riproduttivo	P
Ethion	Neurologico	F, I, R
Fluoro	Osteosclerosi	I, R, W
Piombo	Neurologico	C, N, R, W
Malathion	Neurologico	F, I, R
Metil mercurio	Sviluppo	C, I, R
Nitrato	Ematologico	C, I, W
Ozono	Polmonare	N
Pirinifos-metil	Neurologico	F, I,
PM10 (particolato)	Polmonare	N
Biossido di zolfo	Polmonare	N
Argento	Dermatologico	C, I R

A	= cancerogeno di classe A
C	= Ambient Water Quality Criteria for Human Health
F	= registrato, limitato nell'uso o cancellato in FIFRA
I	= dose di riferimento in IRIS basata su dati umani
N	= regolato sotto il National Ambient Air Quality Standard
R	= riportabile Quantity for Accident Release sotto CERCLA
T	= nella lista Hazardous Air Pollutant
W	= MCL stabilita nel Safe Drinking Water Act
X	= uso limitato o specificato in TSCA

Una volta completata la fase scientifica inizia quella politica o gestionale, che coinvolge i seguenti aspetti:

- **Determinazione del rischio accettabile** - problema non di ordine scientifico ma piuttosto di opinione.
- **Determinazione dei soggetti da proteggere** - identificare e considerare i gruppi di popolazione che sono a rischio estremo o altamente suscettibili all'inquinante.
- **Considerazioni di ecologia umana** - vedere l'uomo in equilibrio con l'ambiente.
- **Scelta della tecnologia di controllo** - richiede sia la formulazione della strategia che la selezione di appropriate tecniche di controllo.
- **Legislazione o standard** - considera il contesto legale e identifica le strategie necessarie.
- **Economia** - ottenere un bilancio tra costi e benefici.

Il processo così descritto sembra lineare; in pratica esso è ciclico, perchè tutti gli standard dovrebbero

essere rivisti periodicamente. Gli studi epidemiologici, frequentemente, non forniscono al decisore una evidenza inequivocabile; possono fornire tuttavia le basi per misure provvisorie, capaci di ridurre o limitare l'esposizione, mentre si continuano gli studi. Poichè effetti dannosi possono manifestarsi solo dopo un lungo periodo di induzione, gli standard provvisori per sostanze nuove o recentemente introdotte devono, certe volte, essere mantenuti per lunghi periodi, mentre si raccolgono dati epidemiologici appropriati.

La necessità di dati epidemiologici utili per definire gli standard continuerà ad essere una priorità per i gestori delle politiche ambientali. Come i paesi espandono la loro base industriale e sviluppano le loro leggi ambientali, le norme saranno soggette a verifica in merito alle loro incertezze, a fronte della crescita, in particolare, dei costi industriali associati alle normative.

### **Esempio di studio: il piombo**

Il piombo è un metallo tossico ubiquitario. Esso è stato usato per migliaia di anni e non ha effetti biologici utili conosciuti. Gli uomini sono esposti al piombo attraverso l'aria inalata, la polvere, i cibi (via principale) e l'acqua potabile. Le emissioni industriali e delle auto sono la principale fonte del piombo, sebbene anche le vernici a base di piombo siano una fonte considerevole. I bambini piccoli sono esposti al piombo a causa del loro comportamento che li porta a "mettere cose in bocca" o "piccicismo" e molte altre persone sono esposte attraverso il fumo. L'esposizione al piombo è segnalata dalla misurazione del livello di piombo nel sangue.

L'esposizione umana di base al piombo è di 35-50 microgrammi/die ( $\mu\text{g}/\text{die}$ ), con i bambini esposti più della media degli adulti ed i maschi adulti più esposti delle femmine adulte. Come risultato i bambini hanno un livello di piombo nel sangue stimato più alto che gli adulti, e gli uomini hanno un livello più alto delle femmine (USEPA, 1986). Inoltre l'esposizione varia secondo l'urbanizzazione, l'età, il sesso e lo stato socioeconomico. Gli studi epidemiologici hanno indicato che gli organismi umani non sono colpiti nella stessa maniera dal piombo. Il piombo può avere effetti dannosi sullo sviluppo fisico e neurocomportamentale nei bambini e sulle funzioni cardiovascolari degli adulti. Sono stati riportati in letteratura numerosi studi su animali inerenti l'esposizione al piombo e gli effetti neurologici. Approssimativamente 50 di tali studi hanno fornito l'evidenza di difficoltà di apprendimento nei roditori e nei primati; il loro utilizzo è comunque limitato a causa della problematicità a generalizzare questi risultati all'uomo. Fin dagli anni '60 gli studi nell'uomo hanno riportato anomalie cardiache in persone con una chiara intossicazione (USEPA, 1986). Ancor più significativamente, almeno 25 studi epidemiologici, fin dal 1886, hanno riportato una associazione tra alti livelli di piombo ematico ed innalzamento della pressione sanguigna (USEPA, 1990). Da più di una dozzina di studi epidemiologici sono emerse valutazioni conclusive sulla corrispondenza tra piombo e cancro. Molti degli studi hanno limitazioni metodologiche che impediscono di stabilire una relazione causale; i risultati di questi studi però suggeriscono di considerare il piombo un cancerogeno umano (USEPA, 1989b).

### **Piombo nell'aria: linee guida dell'OMS per l'Europa**

Una percentuale compresa tra l'80 e il 90% del piombo nell'ambiente deriva dalla combustione dei carburanti. L'entità dell'inquinamento dipende dalla densità del traffico e dal contenuto in piombo dei carburanti. Nell'aria urbana europea i livelli di piombo variano da 0,5 a 3,0  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ; la media su base annua del livello di piombo nell'aria urbana è diminuita nel tempo. Il piombo in aria è prevalentemente in forma di particelle submicroscopiche, che vengono inalate e trattenute nel sistema respiratorio, e per la maggior parte viene poi assorbito nel corpo. Basandosi sulla relazione dose-risposta per i parametri ematologici e neurologici negli adulti, il livello a cui si osserva l'effetto è stato stabilito a 0,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  di piombo nel sangue. Per garantire che il livello del piombo ematico rimanga al di sotto dei 0,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , l'OMS raccomanda che la media su base annua della concentrazione di piombo nell'aria ambiente non superi 0,5-1,0  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

### **Piombo nell'acqua potabile, standard negli Stati Uniti**

Negli Stati Uniti il piombo è regolato da cinque leggi federali sulla protezione ambientale (Tabella 11.5). Il livello massimo di contaminante permesso (MCL) per l'acqua potabile è di 5 µg/ml, ma l'obiettivo per il livello massimo (MCLG) è zero, e si basa su:

- la presenza di una varietà di effetti sanitari per cui è abitualmente difficile identificare livelli soglia di esposizione sotto i quali non esistono rischi di effetti sanitari dannosi.
- l'obiettivo USEPA di ridurre il più possibile il contenuto di piombo nell'acqua potabile, riducendo così l'esposizione totale al piombo;
- la classificazione USEPA del piombo come probabile cancerogeno umano.

**Tabella 11.5 Interventi di regolamentazione del piombo, negli Stati Uniti**

Regolamentazioni	Standard o linea guida	Standard
Clean Air Act	Standard	1,5 µg/m <sup>3</sup> media su un trimestre
Safe Drinking Water Act	Standard	5 µg/l
Clean Water Act	Linea guida	50 µg/l
Superfund	Standard	1 libbra come rilascio accidentale

La letteratura sanitaria sul piombo è stata riassunta nel Air Quality Criteria Document (USEPA, 1986) e nel suo supplemento del 1990 (USEPA, 1990). Sulla base di questa revisione, l'USEPA concludeva che il livello di interesse di piombo nel sangue dovesse essere al di sotto dei 10-15 µg/dL. È stato valutato il contributo del piombo nell'acqua al livello di piombo nel sangue per neonati, bambini più grandi e adulti. Per i neonati, lo studio di Lacey (1985) è stato usato per definire una pendenza di 0,26 µg/dL ematico per µg/L in acqua, per livelli di piombo nell'acqua al di sotto di 0,0015 mg/L, e di 0,04 µg/dL ematico per µg/L in acqua, per i livelli di piombo nell'acqua sopra 0,0015 mg/L. Per i bambini più grandi, l'USEPA ha usato uno studio di Hawaiani esposti a piombo nell'acqua potabile in concentrazioni molto variabili (Maes *et al.*, 1991). Le pendenze erano di 0,12 µg/dL di piombo ematico per µg/L in acqua, per livelli di piombo nell'acqua sotto 0,015 mg/L, e di 0,06 µg/dL di piombo ematico per µg/L di piombo nell'acqua, per livelli sopra 0,015 µg/L. Per gli adulti, venne usata una pendenza di 0,06 µg/dL nel sangue per µg/L di piombo in acqua (Pocock *et al.*, 1983). Basandosi su queste informazioni e sul contributo relativo dell'acqua sulla quantità totale del piombo introdotta (stimato al 20%), fu stabilita una MCL di 5 µg/L nell'acqua (Federal Register, 1991).

### **11.4 Ruoli potenziali dell'epidemiologia nella politica e nella gestione**

L'epidemiologia può potenzialmente fornire altri contributi sostanziali alla politica ed alla gestione ambientale e sanitaria. I dati umani che possono quantificare la relazione tra i rischi ambientali e gli effetti sanitari possono essere usati per stimare l'impatto di nuovi programmi o risorse, così come per valutare l'impatto delle politiche attuali. In molti casi, è stato già raggiunto il massimo contributo dell'epidemiologia ambientale possibile.

#### **Componente sanitaria della valutazione di impatto ambientale**

La valutazione di impatto ambientale (EIA) nasce nel 1970 con l'approvazione negli Stati Uniti del National Environmental Policy Act. Da allora, più di 50 paesi hanno adottato i requisiti dell'EIA e sviluppato procedure associate. I potenziali effetti sanitari di un progetto dovrebbero essere analizzati come parte del processo EIA, ed alcuni hanno suggerito che tutto il processo complessivo possa essere chiamato processo di valutazione dell'impatto ambientale sanitario (EHIA). Gli scopi dell'EHIA sono quelli di predire e valutare gli impatti dello sviluppo sui determinanti ambientali della salute. Un esempio di EHIA potrebbe essere la stima dell'aumento delle popolazioni di zanzare portanti malaria, come risultato della costruzione di dighe per l'acqua. Prevedendo i cambiamenti futuri nei fattori ambientali è possibile indicare i cambiamenti di salute che possono derivarne. Queste indicazioni possono poi venire usate dagli esperti sanitari locali, insieme ad altre considerazioni, per

valutare futuri cambiamenti nella morbosità e nella mortalità (Canter, 1989). Giroud (1984) ha elencato i seguenti passi nel processo EHIA:

1. Valutazione degli impatti primari sui parametri ambientali.
2. Valutazione degli impatti secondari o terziari sui parametri ambientali risultanti da quelli primari.
3. Screening dei parametri ambientali coinvolti di riconosciuto significato sanitario (richiede dati epidemiologici).
4. Valutazione della dimensione delle popolazioni esposte per ogni gruppo dei fattori ambientali a valenza sanitaria.
5. Valutazione della dimensione dei gruppi a rischio inclusi in ogni categoria di popolazione esposta.
6. Stima dell'impatto sanitario in termini di morbosità e mortalità.
7. Definizione di rischi accettabili o di impatti sanitari significativi.
8. Identificazione di misure efficienti di mitigazione per ridurre gli impatti sanitari significativi.
9. Decisione finale.

### **Impatti ambientali e sanitari prevedibili**

Sono due i principali mezzi per stimare i cambiamenti ambientali e sanitari futuri: descrizione osservazionale con analisi delle informazioni correnti e passate, e stima dei trend. I trend possono essere stimati usando le misure epidemiologiche di impatto potenziale e sviluppando modelli di scenari ambientali-sanitari che possono risultare a seguito di interventi specifici. Ci sono diversi approcci per una descrizione osservazionale e per l'analisi delle informazioni correnti e passate, che possono essere usati per stimare cambiamenti ambientali e sanitari futuri.

- Dati epidemiologici descrittivi - possono essere usati per creare una “fotografia” della distribuzione e dei possibili determinanti ambientali della malattia. Sviluppando studi di epidemiologia ecologica sulla base di questi dati, si possono ottenere alcune previsioni riguardanti le situazioni a breve e a medio termine.
- Studi epidemiologici analitici condotti su un problema ambientale specifico possono essere usati come evidenza dell'associazione tra i rischi ambientali e gli effetti sanitari. Le misure degli effetti epidemiologici, quali il rischio relativo, la percentuale di rischio attribuibile e la percentuale della popolazione a rischio attribuibile, possono anche servire come base per effettuare una stima quantitativa dei cambiamenti negli effetti, a seguito dell'adozione di misure di controllo.
- Il risk assessment è un altro strumento per predire i vari rischi derivanti da un agente ambientale. La caratterizzazione del rischio indicherà il livello di rischio per le popolazioni esposte. Analizzando l'esposizione attuale e prevedendo come le condizioni che influenzano l'esposizione possano variare nel futuro, può essere stimato il possibile rischio.
- È inoltre possibile usare la sorveglianza epidemiologica ambientale per predire l'impatto delle attività di controllo e preventive. Sono rilevanti, a proposito, la sorveglianza delle tendenze nelle emissioni di inquinanti ambientali, le dinamiche ambientali e le concentrazioni degli inquinanti e gli effetti sulla salute correlati, così come l'efficacia dei programmi di controllo.

### **Analisi economica**

Nel campo dell'assistenza sanitaria, i dati epidemiologici sono normalmente usati per determinare l'impatto economico delle varie malattie e del loro trattamento. Ma questo uso dei dati epidemiologici non è ancora esteso tra i decisori in campo ambientale; è stato dimostrato che l'ostacolo maggiore è l'assegnazione di un valore monetario a eventi sanitari. Molte analisi economiche semplicemente ignorano i costi sanitari e/o i benefici delle norme e delle politiche ambientali. Vengono stimati il numero di vite salvate o gli anni di lavoro guadagnati, ma spesso ad essi non è assegnato un valore monetario. Attribuire importanza alla tutela dell'ambiente mentre si incoraggia lo sviluppo economico, rende sempre più necessario questo tipo di analisi.

### **Equità ambientale**

L'equità ambientale è un obiettivo della società definito come la fornitura di protezione adeguata verso gli agenti tossici ambientali a tutta la popolazione, senza differenze di età, etnia, genere, stato sanitario, classe sociale, o razza (Sexton & Anderson, 1993). Sebbene ci siano pareri controversi su fino a che punto la società possa raggiungere questo risultato, c'è un largo consenso sul fatto che giustizia ed uguaglianza devono essere intrinseche al mandato della società relativo alla salvaguardia dai danni conseguenti ad esposizione ad agenti ambientali nella popolazione. Le questioni della equità ambientale (certe volte riferite alla giustizia ambientale) sono state esaminate in numerosi documenti (ATSDR, 1992c; Lee, 1992; USEPA, 1992b; Sexton & Anderson, 1993; Sims, 1994). Il maggior ostacolo per valutare l'equità ambientale è stata la mancanza di dati sufficienti a permettere ai decisori politici di distinguere la componente ambientale di numerose malattie nella popolazione generale. Ancora meno sono i dati che consentono di esaminare il ruolo dell'ambiente nelle malattie e nei disturbi che possono prevalere nelle popolazioni svantaggiate (USEPA, 1992b). I dati epidemiologici, sia attraverso il disegno che la conduzione degli studi o la sorveglianza, possono fornire una valutazione dell'equità ambientale in una comunità o in una regione geografica.

### **Valutazione di interventi e politiche**

Si può dire che l'epidemiologia ha due livelli fondamentali di investigazione. Il primo è una conoscenza della relazione tra un agente e l'effetto dannoso; il secondo è rappresentato dalla gestione o dall'intervento. L'intervento non richiede sempre una conoscenza completa del processo della malattia, come negli esempi sulla contaminazione idrica da agenti microbici e da metil-mercurio illustrati all'inizio di questo capitolo. L'epidemiologia ambientale è uno strumento importante per identificare le strategie appropriate per la riduzione del rischio e, successivamente, per valutare il beneficio per la società di queste strategie di gestione.

Numerosi sono gli esempi in cui varie riduzioni dell'inquinamento atmosferico hanno prodotto vantaggi sanitari misurabili per la popolazione. Negli Stati Uniti il piombo è stato rimosso dalla benzina usata per autotrazione. Di conseguenza i programmi di monitoraggio del piombo ematico hanno registrato un calo precipitoso del livello di piombo nel sangue, come anche i programmi di monitoraggio del piombo nell'aria (vedere la Figura 6.4 al Capitolo 6). Nel Cile l'inquinamento dell'aria dovuto ai veicoli a motore è stato considerato la principale causa della morbosità e mortalità respiratoria. Il governo ha rimosso i vecchi autobus che non rispettavano gli standard per i gas di scarico; nel giro di settimane, molti clinici registrarono la riduzione di numerose condizioni respiratorie. Il trattamento dell'acqua potabile con cloro o altri disinfettanti ha virtualmente eliminato la febbre tifoide, il colera e la diarrea come cause importanti di morbosità e mortalità in numerosi paesi.

La valutazione di questi interventi è stata ottenuta per mezzo di due tipi di epidemiologia: l'uso prevalente è quello dei sistemi di monitoraggio e di sorveglianza epidemiologica. Un altro modo è rappresentato dallo studio specifico di una popolazione, come quelli trattati nel Capitolo 6. Nell'epidemiologia ambientale questi tipi di studi sono rari, ma da un punto di vista politico possono fornire input diretti per valutare i costi ed i benefici di una scelta gestionale, legislativa e politica. Gli investimenti in epidemiologia possono spesso far risparmiare ai governi un costo tante volte superiore a quello della ricerca stessa, attraverso la valutazione di una politica di riduzione/prevenzione del rischio. Un tale risultato è particolarmente cruciale in questa epoca impegnata in una crescita economica compatibile con la salvaguardia dell'ambiente.

## **11.5 Il ruolo dell'epidemiologia nei processi decisionali di igiene ambientale**

Lo scopo finale dell'igiene ambientale e dell'epidemiologia è quello di prevenire la morbosità e la mortalità "inutili", proteggendo le persone da esposizioni non necessarie ai rischi ambientali (Kjellström & Schwartz, 1994). Sfortunatamente, malgrado l'abbondante letteratura, ancora relativamente poche persone godono dei potenziali benefici sanitari identificati grazie all'epidemiologia ambientale. La situazione è peggiore in numerosi paesi in via di sviluppo, ove le esposizioni ambientali e occupazionali superano, in maniera consistente, i livelli delle linee guida nazionali e internazionali, ma

molto poco viene fatto per modificare questo fenomeno. Per ribaltare questa tendenza, i dati derivanti dagli studi di epidemiologia ambientale dovrebbero essere trasformati dalla teoria alla pratica sanitaria pubblica in maniera più efficace. Questo richiede che gli epidemiologi siano coinvolti nel processo di individuazione delle soluzioni ai problemi che loro stessi studiano.

Tra i numerosi fattori che influenzano i percorsi decisionali, alcuni sono:

- valore che viene riconosciuto alla salute, alla durata della vita umana ed alla protezione ambientale, di interesse per le generazioni future
- forza dei dati, entità della documentazione
- conoscenza pubblica dei dati e percezione (accettabilità) del rischio
- costi dell'intervento; sono compatibili?
- leadership: abilità a persuadere/motivare, negoziare, risolvere obiettivi in conflitto o interessi in competizione
- processo che produce un forum di dibattito e fornisce input alla messa a punto della politica pubblica
- particolare attenzione alla pianificazione per il futuro, responsabilità di governo nella protezione pubblica da danni futuri
- grado di collaborazione: governo/mercato/associazioni non governative
- processi normativi
- processi giudiziari
- serietà dei risultati
- coinvolgimento dei mass media
- messaggi mirati per i decisori

Il processo decisionale non è semplice. I decisori devono scegliere tra alternative competitive e possono trovarsi davanti a incertezze ad ogni passo. Queste difficoltà, comunque, non giustificano una mancanza d'azione. C'è una chiara divergenza tra il livello di sofisticazione della ricerca sanitaria pubblica e ciò che è il processo decisionale in sanità pubblica e in campo ambientale (Schwartz, 1994). Una possibilità per correggere questa divergenza è quella di coinvolgere gli epidemiologi nel processo di indirizzamento delle soluzioni ai problemi studiati. Certamente l'aumentata evidenza riguardo un potenziale problema sanitario aiuterebbe i processi decisionali, ma aspettare maggiori evidenze implica che qualcuno debba nel frattempo sopportare sofferenze (Sandman, 1991).

Come notava Bradford Hill nel 1965, "Tutto il lavoro scientifico è incompleto, sia esso osservazionale o sperimentale. Tutto il lavoro scientifico è soggetto ad essere ribaltato o modificato all'aumentare delle conoscenze. Questo non ci conferisce la libertà di ignorare le conoscenze che già abbiamo, né di rimandare l'azione che si presenta necessaria ad un tempo dato."

## **12 AGENDA PER IL FUTURO DELL'EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE: RICERCA, PRATICA E INSEGNAMENTO**

### ***Obbiettivi didattici***

- Essere in grado di sviluppare un piano per un ulteriore sviluppo della conoscenza in epidemiologia ambientale.
- Essere consapevoli delle fonti di informazione disponibili e conoscerne le metodologie di accesso.
- Sapere come pianificare e condurre un workshop in epidemiologia ambientale di base.
- Capire i possibili sviluppi futuri dell'epidemiologia ambientale.

### ***12.1 Proseguire la propria formazione nel campo dell'epidemiologia ambientale***

Questo lavoro vuole andare oltre gli scopi di un libro di testo di epidemiologia ambientale. Il suo fine è quello di preparare professionisti a partecipare alle ricerche. In ogni caso, è necessario acquisire maggiori informazioni di quelle qui fornite. Anche l'epidemiologo più anziano per attività riconoscerà che un aggiornamento continuo, nonché uno scambio di opinioni con colleghi, è sempre necessario. C'è una serie di modi in cui tutto ciò può essere fatto:

- leggendo criticamente la letteratura di epidemiologia ambientale;
- leggendo testi e monografie;
- frequentando corsi brevi o programmi di epidemiologia ambientale.

#### **Ulteriori letture**

La letteratura di epidemiologia ambientale cresce molto rapidamente. Testi e riviste con i relativi campi di specializzazione sono elencati nell'Appendice 12.1. Il World Health Organization Programme in Environmental Health ha pubblicato numerosi documenti di rilievo negli ultimi anni. Gli studenti possono contattare il WHO Environmental Programme a Ginevra per informazioni in merito alle pubblicazioni più recenti.

Anche i vari uffici ministeriali che si occupano di statistica sanitaria, salute e ambiente pubblicano dati di epidemiologia ambientale locali o regionali, che possono rivelarsi utile materiale di confronto. Inoltre, organizzazioni non governative, come fondazioni e gruppi ambientalisti, pubblicano materiale, spesso gratuito, da cui poter trarre utili informazioni.

#### **Ulteriore formazione**

Sono disponibili ulteriori corsi di formazione post-laurea per professionisti. Li organizzano le Università e altre agenzie non governative, gli uffici regionali dell'OMS e organizzazioni professionali. La loro durata varia da alcuni giorni a qualche settimana, e trattano argomenti diversi. In Nord America ed Europa sono disponibili anche brevi corsi a pagamento. La maggior parte dei corsi fornisce molto materiale, nonché opportunità di aggiornamento su specifici interessi nel campo dell'epidemiologia ambientale. Una lista dei corsi di formazione è disponibile presso l'ufficio Global and Integrated Environmental Health, WHO, 1211 Ginevra 27, Svizzera.

### ***12.2 Fonti di informazione***

Ci sono numerose potenziali fonti di informazione che possono essere consultate su ogni aspetto dell'epidemiologia ambientale. Queste includono:

- la vasta e crescente letteratura di epidemiologia ambientale regolarmente pubblicata sotto forma di giornali nazionali ed internazionali;
- la rete WHO Global Environmental Epidemiology Network (GEENET) (che comprende più di 1000 epidemiologi ambientali, molti dei quali sono disponibili ad assistere i colleghi);

- alcune società professionali internazionali e nazionali quali l'International Society of Environmental Epidemiology (ISEE), la International Commission on Occupational Health (ICOH), la International Epidemiology Association (IEA) e la Society for Epidemiologic Research (SER).

In aggiunta, vi sono numerosi meeting scientifici annuali che forniscono informazioni aggiornate su vari argomenti.

Le informazioni GEENET sono spesso un buon punto di partenza per la ricerca. Per esempio, GEENET tiene archivi di informazioni utili, fra le quali una bibliografia di articoli relativi all'argomento (conosciuta come l'archivio delle risorse di igiene ambientale), raccolte di newsletter di epidemiologia ambientale, informazioni su corsi di formazione, fonti di finanziamento e progetti di ricerca.

Generalmente gli epidemiologi ambientali cercano informazioni sottoforma di consigli, articoli o dati. Una revisione del panorama letterario è spesso il primo passo verso lo studio di un problema specifico.

Informazioni su come accedere alla letteratura si trovano in appendice. Inoltre, è spesso possibile ottenere consigli riguardanti la metodologia, gli strumenti analitici e le considerazioni pratiche dai colleghi epidemiologi. I contatti possono essere ottenuti tramite:

- GEENET
- le Università
- le agenzie governative e non
- meeting nazionali/internazionali es. ISEE, IEA e SER.

I parametri di riferimento per i dati di esposizione possono rivelarsi un utile strumento di selezione nella pianificazione della ricerca o nella valutazione dell'opportunità di intervento. Molti documenti internazionali e nazionali contengono informazioni riassuntive in merito ai rischi specifici incluse, ad esempio, informazioni sul livello di esposizione umana a rischi di tipo specifico. Le scoperte in campo epidemiologico, quando sono disponibili, sono dati chiave poiché direttamente applicabili ai problemi di salute dell'uomo. Alcuni esempi sono riportati nella Tabella 12.1.

**Tabella 12.1 Esempi di documenti che contengono risultati di valore epidemiologico**

Documento	Agenzia o fonte
Environmental health criteria documents	International Programme on Chemical Safety
Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans	International Agency for Research on Cancer
Toxicological profiles	Agency for Toxic Substances and Disease Registry (USA)
Criteri di valutazione ambientale	Environmental Protection Agency (USA)
Criteria for recommended standards	National Institute for Occupational Safety and Health (USA)
Monografie ECETOC	European Chemical Industry Ecology and Toxicology Centre
Dati di tossicità chimica su sostanze radioattive	Organisation for Economic Co-operation and Development
Rapporti BUA	Beratergremium für Umweltrelevante Altstoffe der Gesellschaft Deutscher Chemiker (Germany)
Serie di monografie	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene (Netherlands)



Se si ricercano informazioni di base sui costituenti chimici o la tossicità di una particolare sostanza, potrebbe valere la pena fare riferimento ai documenti informativi sulla sicurezza dei materiali (Material Safety Data Sheet, MSDS), che possono essere ottenuti dal produttore, dal fornitore o venditore delle specifiche sostanze di interesse. I dati riguardanti la tossicità riportati nelle MSDS si riferiscono generalmente ad effetti acuti e possono essere utili in situazioni di emergenza; anche i centri antiveleni possono essere una buona fonte di informazioni cliniche di base sulle prime cure in caso di avvelenamento acuto.

### **Le informazioni esistenti**

In aggiunta alle informazioni sopra riportate, esistono altri metodi per ottenere dati esistenti utili a pianificare uno studio epidemiologico. Una grande quantità di dati su esposizioni ambientali e occorrenza di eventi a valenza sanitaria viene raccolto di routine. La maggior parte dei paesi è dotata di sistemi per archiviare ed elaborare i dati inerenti la mortalità (WHO/CEC; 1989). In molti paesi è reperibile un'ampia gamma di dati statistici di morbosità, come tassi di malformazioni congenite e malattie infettive. Così come in molti paesi è possibile esaminare tassi di incidenza del cancro, piuttosto che parlare di mortalità, usando le registrazioni effettuate nell'ambito della sorveglianza continua dei casi di cancro nella popolazione. Diversi paesi europei presentano sistemi di record - linkage nazionali che sono particolarmente utili per l'analisi epidemiologica che utilizza dati demografici e sanitari esistenti. Altre informazioni sono rilevabili da periodiche osservazioni demografiche, come quelle condotte dalla National Health and Nutrition Survey (USA). Molte di queste statistiche globali e regionali sono redatte dall'OMS.

Esiste un numero relativamente minore di fonti su dati di esposizione ambientale e la qualità di molte di esse non è adeguata agli studi epidemiologici. Nonostante ciò, questi dati possono essere utili per decidere se condurre uno studio o meno e per pianificare una nuova raccolta di dati di monitoraggio ambientale. Alcuni esempi sono: liste di industrie contenenti stime dei livelli di inquinanti scaricati per area geografica; monitoraggio dell'acqua o dei prodotti alimentari in commercio, dati raccolti durante i rilevamenti previsti da norme di legge di piombo, pesticidi o altre sostanze tossiche nell'aria o nell'acqua. Il Global Environment Monitoring System, sponsorizzato dall'OMS, raccoglie informazioni su acqua, aria e prodotti alimentari.

I ricercatori esaminano di prassi i dati esistenti per decidere se procedere con uno studio epidemiologico. Del resto i dati esistenti vengono usati talvolta come base per uno studio. Alcuni esempi sono riportati al Capitolo 6: ricercatori che hanno usato i dati del National Health and Nutrition Examination Survey condotto negli Stati Uniti per esaminare ipotetiche associazioni, per quanto riguarda i bambini, fra concentrazioni di piombo nel sangue e statura (Schwartz, 1986), e fra inquinamento dell'aria e funzione polmonare (Schwartz, 1989). La ricerca sull'associazione fra arsenico e mortalità per cancro condotta nell'area endemica per la Blackfoot Disease in Taiwan (alterazioni cutanee, ipercheratosi e melanosì) è un esempio di studio ecologico (Chen & Wang, 1990).

### **Biblioteche**

Un cospicuo numero di biblioteche partecipa al Global Environment Library Network (GELNET). Sono depositarie delle pubblicazioni dell'OMS e sono accessibili al pubblico durante l'orario di lavoro. Informazioni su GELNET si possono ottenere dall'ufficio Global and Integrated Environmental Health, World Health Organization, 1211 Ginevra 27, Svizzera.

### **Organizzazioni nazionali e internazionali**

Altre informazioni su studi precedenti e dati su potenziali rischi ambientali sono disponibili presso organizzazioni regionali, nazionali ed internazionali. E' sempre più semplice accedere, anche per persone lontane, a tali informazioni per telefono o via Internet.

Database contenenti informazioni utili nella ricerca epidemiologica ambientale sono conservati presso numerose organizzazioni internazionali incluse ILO, UNEP, UNESCO, WHO e altre banche

mondiali. Per esempio ILO gestisce l'Occupational Safety and Health Hazard Alert System, capace di diffondere rapidamente informazioni su rischi sospetti o scoperti di recente. L'Hazard Alert System è collegato con l'International Register of Potentially Toxic Chemical (IRPTC) del Programma ambientale delle Nazioni Unite. Inoltre il centro CIS dell'ILO (International Occupational Safety and Health Information Center) raccoglie dati pubblicati dal 1974. Negli USA, il National Institute of Occupational Safety and Health gestisce il registro degli effetti tossici delle sostanze chimiche (RTECS), che contiene dati sulla tossicità di oltre 30.000 sostanze.

ICOH pubblica la "International Directory of Database and Databanks in Occupational Health". La guida include 170 database su una varietà di argomenti e si può ottenere contattando: ICOH 10, Avenue Jules-Crosnier, CH-1206, Ginevra, Svizzera.

### **Ricerche**

Negli Stati Uniti, la biblioteca nazionale di medicina raccoglie più di 30 database biomedici. "Medlars" (Medical literature analysis and retrieval system) o "MEDLINE" (Medlars on line) è il sistema più noto e raccoglie da oltre 20 anni dati bibliografici tratti da più di 3.600 autorevoli riviste mediche, che vengono quotidianamente riassunti. Il database contiene oggi più di 7 milioni di riferimenti e ogni settimana se ne aggiungono 8.000 dei nuovi. Medline è accessibile "on line" tramite biblioteche o agenzie. E' reperibile su richiesta anche una versione su CD-ROM, che viene aggiornata e spedita mensilmente. In molti paesi è accessibile anche attraverso Internet.

Toxline è un database che contiene più di 800.000 riferimenti per studi di tossicità umana e animale, inclusi gli effetti sulla salute dei prodotti chimici ambientali. Altri database sono: HSDB, ETIC; CCRIS; CHEMLINE e CANCERLIT.

### **Accesso elettronico: Internet**

Internet è la "rete delle reti" e collega milioni di persone in tutto il mondo. Nato originariamente per collegamenti riguardanti istruzione, ricerca e organizzazioni non commerciali, si è diffuso ora a tutti i settori della società, inclusa l'industria, gli ospedali, le organizzazioni non-profit e i privati.

Posta elettronica (e-mail) e bacheche virtuali rappresentano ormai strumenti di uso comune. La bachecca è un mezzo efficace per inviare informazioni a più persone: l'utilizzatore (registrato) ha la possibilità di scrivere messaggi, che possono poi essere visti da altri utenti registrati in base ad autore, oggetto o altra classificazione.

Altri progetti, all'esame, riguardo Internet includono:

- un Global Health Network per mettere in contatto coloro che operano nel campo della salute pubblica;
- una scuola via Internet per la formazione in sanità pubblica;
- un giornale di epidemiologia ambientale on-line per una rapida diffusione dell'informazione.

Inoltre lo US Public Health Information and Surveillance System sta progettando un network informativo sanitario per la diffusione dei dati su statistiche, fattori di rischio e sorveglianza di malattie specifiche. Il tutto sarà supportato dagli attuali Wonder/Pc (Wide-ranging Online Data for Epidemiologic Research) per sistemi di comunicazione ed informazione, per permettere a tutti di collegarsi usando un computer, il modem e il numero verde.

L'accesso richiede un computer, il modem e un link. Quest'ultimo può essere l'accesso diretto ad Internet o un accesso remoto via telefono. Si può accedere a Internet tramite l'università, i servizi per la ricerca, le agenzie di governo o i servizi privati di telecomunicazione. I Provider privati (ISP - Internet Service Provider) danno accesso ad Internet attraverso una connessione denominata "gateway". Le spese per il collegamento si basano sul tipo di accesso e la quantità di tempo di connessione accumulata mensilmente.

La crescita di Internet è esplosa negli ultimi anni. Contestualmente è diventato più semplice l'accesso.

Il software necessario per accedere all'informazione via Internet ("browser") è in genere già previsto nel sistema operativo di molti PC, oppure può essere scaricato e distribuito senza alcun costo da coloro che hanno già accesso al software. Una volta in Internet, con l'aiuto di programmi denominati "motori di ricerca" si inizia la ricerca delle informazioni desiderate.

### **12.3 Insegnare epidemiologia ambientale**

"Un buon programma di insegnamento è quello mirato alle necessità degli studenti, alle loro capacità e ai loro interessi, che sfrutta situazioni e tecniche didattiche per dare l'opportunità di raggiungere gli obiettivi" (Abramson, 1992).

Verrà pubblicata una Guida all'insegnamento dell'epidemiologia ambientale a completamento del presente testo. Quanto segue fornisce un promemoria di idee e suggerimenti per il futuro docente.

Così come in altre discipline, non ci sono regole stabilite che garantiscono l'efficacia della didattica epidemiologica. Ogni situazione si presenta unica, legata a fattori quali il livello di interesse e di preparazione degli studenti, le loro attitudini culturali, il tempo disponibile e le capacità dell'insegnante (Weiner & Bower, 1982). Considerate, per esempio, l'ampia gamma di conoscenze e abilità che potrebbero essere insegnate per rispondere alle esigenze che ha l'epidemiologo: ricercatore (disegno, implementazione e analisi degli studi), scrittore (es. capacità di scrivere), manager/responsabile (ad es. di un'indagine epidemiologica), comunicatore (che deve potersi rivolgere a colleghi, piccole comunità, studenti o anche alla stampa) e decision-maker. Considerate anche l'approfondimento che può essere ottenuto durante un programma di formazione annuale per laureati e ricercatori, in confronto ad un corso introduttivo di una settimana per personale che opera nel territorio.

L'epidemiologia è stata tradizionalmente insegnata ad un gruppo altamente specializzato di studenti in scuole di medicina e di sanità pubblica. Più recentemente, comunque, è stata formata su come intraprendere lo studio dell'epidemiologia di base un'ampia gamma di studenti, da diplomati ad ingegneri (Fraser, 1987). Per esempio, è stato organizzato un workshop di base di una settimana per mezzo di GEENET dal 1988 in più di 25 paesi (WHO, 1994 a). I partecipanti-tipo sono:

- operatori, medici e non, di sanità pubblica (a livello nazionale o provinciale);
- tecnici di protezione ambientale o politici;
- ricercatori in campo ambientale impegnati in più settori;
- insegnanti di sanità pubblica, igiene ambientale o epidemiologia.

#### **Sviluppo formativo**

"Gli adulti trattengono meglio l'informazione quando sono coinvolti in esercitazioni riguardanti la risoluzione dei problemi. Ricordano il 20% di quello che sentono, il 40% di ciò che sentono e vedono, l'80% di ciò che vedono e fanno" (WHO - Approaches to university curricula in environmental health).

Gli esperti riportano che gli adulti trattengono meglio l'informazione quando sono attivamente coinvolti nella soluzione di problemi e in esercitazioni pratiche. L'istruzione è meno efficace quando le persone ricevono l'informazione passivamente, come ad esempio tramite conferenze. Wallershein & Weinger (1992) suggeriscono di usare metodi interattivi, come il pensiero critico e le azioni di gruppo.

Wallershein (1993) nota che lo sviluppo formativo punta a coinvolgere le persone in sforzi di gruppo per identificare i loro problemi, per analizzare in maniera critica le radici culturali e socio-economiche dei problemi, per sviluppare strategie per la loro soluzione.

Questo approccio enfatizza anche l'importanza del lavoro di squadra incoraggiando i contatti sociali in classe attraverso piccoli gruppi. Inoltre, una considerevole attenzione è data al dialogo studente-docente che rafforza i legami e genera un feedback. Idealmente studenti e docenti diventano complici ("co-learners"), condividono idee e lavorano assieme per produrre soluzioni.

### **Cosa fa grande un insegnante?**

Molti di noi ricordano insegnanti particolari che si sono distinti per la loro attitudine all'insegnamento. Fra le loro specifiche qualità, la più probabile è che avessero una eccezionale padronanza della materia che insegnavano. Tuttavia la competenza tecnica di un ricercatore o di un professionista non garantisce da sola l'eccellenza dell'insegnamento (Lowe & Kostrzeuski, 1973). La maggior parte dei docenti di epidemiologia ambientale, e probabilmente la grande maggioranza degli insegnanti di discipline sanitarie, non è stata sufficientemente formata su come organizzare e condurre un corso in modo efficace. Molti insegnanti imparano dalle proprie esperienze. A lungo termine ciò può condurre ad un corso interessante e ben recepito, a breve termine potrebbe rivelarsi, per studenti e docenti, frustante e noioso.

Rotem & Abbatt (1982) notano che l'insegnamento coinvolge ed implica una serie di abilità che si possono sviluppare e migliorare, come:

- pianificare ed organizzare un corso per decidere cosa e come gli studenti dovrebbero imparare e, di conseguenza, valutare se l'insegnamento è stato valido;
- comunicare con varietà di metodi, inclusi la conversazione, la spiegazione, il consiglio, ascoltare e dimostrare usando materiale audio/video, role play o altre tecniche interattive;
- fornire opportunità e/o fonti di arricchimento quali esperienze pratiche, libri, riviste, utilizzo di computer e software specifico e collaborazione di esperti locali.

### **Pianificare e organizzare la formazione**

Mentre si pianifica e si organizza un corso di epidemiologia dovrebbero essere considerati i seguenti aspetti.

#### **Conoscere l'audience**

E' estremamente importante conoscere il numero, gli interessi e il livello attuale di conoscenza dei partecipanti. Ovviamente le necessità dei non laureati sono diverse da quelle dei laureati. Analogamente le necessità degli operatori sanitari sono diverse da quelle di altre figure professionali formate per altre discipline. E anche fra gli stessi operatori sanitari, l'insegnamento si differenzierà a seconda delle specifiche categorie: infermiere, studenti di medicina, ricercatori o studenti di sanità pubblica.

Idealmente i partecipanti dovrebbero condividere un livello simile di conoscenza dei principi epidemiologici e di igiene ambientale. Questo per evitare che i principianti non riescano a seguire o che gli esperti si annoino. I potenziali partecipanti dovrebbero dimostrare di avere concluso con successo attività di formazione precedenti o di possedere uno specifico livello di conoscenza epidemiologica. In alternativa, è possibile fare un test di ingresso per verificare il livello di preparazione di coloro che intendono partecipare.

Il numero dei partecipanti dovrebbe essere limitato, altrimenti l'interazione personale fra studenti e insegnanti non è possibile. Inoltre, se un gruppo è troppo vasto non ci sarà tempo a sufficienza per rispondere alle domande dei partecipanti. Tuttavia il gruppo dovrebbe essere una buona squadra. Il numero previsto per un GEENET di una settimana è generalmente fra i 20 e i 30 partecipanti.

Le seguenti informazioni si possono raccogliere con un questionario:

- dati anagrafici;
- occupazione;
- formazione ed esperienze;
- abilità linguistica;

- obiettivi;
- interessi.

Altre informazioni su aspetti “locali” si possono avere intervistando epidemiologi del posto o consultando precedenti ricerche e studi di insegnanti ed esperti.

#### **Determinare ciò che gli studenti dovrebbero imparare**

Formulare obiettivi per i corsi proposti e per ogni sessione. Alcuni obiettivi dovrebbero includere:

**la conoscenza** dei principi e dei metodi epidemiologici, compreso il tipo di disegno dello studio, gli effetti di specifiche esposizioni ambientali, i metodi analitici. Si deve determinare anche il livello di conoscenza da raggiungere;

**l'abilità** a praticare o ad insegnare epidemiologia. Ciò potrebbe includere l'abilità a valutare criticamente la letteratura, sviluppare un questionario, valutare un rischio, usare Epi-Info e progettare uno studio;

**lo sviluppo di una competenza sufficiente** a formare un comitato che abbia il fine specifico di intraprendere studi o, ad esempio, di garantire la partecipazione di rappresentanti di comunità nella valutazione del rischio o nella valutazione di un cluster di casi di cancro.

Determinare obiettivi di insegnamento o di formazione dipende da una varietà di fattori, fra i quali le necessità dichiarate o valutate, il livello di conoscenza dei partecipanti, il tempo a disposizione e l'abilità degli insegnanti.

#### **Sviluppare il programma formativo**

Sviluppare un programma formativo implica determinarne i contenuti e selezionare i metodi di insegnamento, in particolare occorre:

- determinare specifici obiettivi per ogni corso e sezione;
- stabilire una scaletta di programmazione di argomenti e metodi d'insegnamento;
- considerare il tempo necessario per svolgere ogni argomento e il beneficio potenziale offerto dai diversi metodi di insegnamento;
- delineare i contenuti di ogni sessione.

Un esempio di scaletta di programmazione per un Workshop di una settimana in epidemiologia ambientale è fornito da WHO, 1994a. Anche Olsen e Trichopoulos (1992) hanno descritto metodi per insegnare una vasta gamma di argomenti di epidemiologia.

Si intuisce che non esiste un programma formativo unico per le necessità di tutti gli studenti, anzi, le sue caratteristiche fondamentali devono essere proprio la flessibilità e l'attualità. Idealmente un curriculum può essere modificato a seconda delle richieste e può concentrarsi su argomenti ed esempi di interesse per i partecipanti.

#### **Gestire il corso**

Si suggeriscono una varietà di metodi didattici. L'intento è quello di mantenere l'interesse e il coinvolgimento dei partecipanti incitandoli a giocare un ruolo attivo. Ciò si rende possibile utilizzando a seconda dei casi le diverse tecniche interattive sotto riportate (vedi Wallerstein & Rubenstein (1992) e Wallerstein & Weinger (1992)).

**Le lezioni frontali** sono il metodo didattico più comune. Possono dare una base di conoscenze, tuttavia sono una forma univoca di comunicazione e andrebbero possibilmente integrate da forme di partecipazione, come ad esempio esercizi. Poiché la concentrazione di chi ascolta generalmente non va oltre i 10-15 minuti, le lezioni dovrebbero essere brevi, fare uso di audiovisivi e sollevare domande da parte dei partecipanti.

**Le attività di gruppo** possono essere utilizzate per incoraggiare gli studenti a far ricorso alle proprie esperienze ed applicare le nuove conoscenze per rispondere alle domande. Possono essere usati spunti di discussione per stimolare il pensiero critico e la partecipazione, superare l'ansia e favorire l'interazione di gruppo. Per esempio, nei *buzz group* i partecipanti vengono appaiati e viene loro richiesto di compilare una lista di idee su un determinato argomento. Ugualmente in un *brain storm* tutti vengono stimolati ad apportare il maggior numero di idee possibili.

**Il questionario** è un mezzo per introdurre una lezione attraverso una serie di domande che riguardano diversi punti della lezione stessa. Agli studenti viene richiesto di completarlo (o quanto meno di formulare delle ipotesi) individualmente o a coppie prima della lezione. Il docente può poi usare le risposte come base di discussione per stimolare l'interazione del gruppo.

**Gli esercizi e le simulazioni** possono essere usati per mettere in pratica abilità varie (formulazione di domande, raccolta di informazioni, applicazione pratica di nuove conoscenze). Per esempio, ai partecipanti è posto un problema (da risolvere entro un determinato tempo) che richiede loro di trarre informazioni dalla biblioteca, contattare l'agenzia appropriata o usare una strumentazione informatica. (Una serie di problemi è disponibile presso WHO, 1992b; Markowitz, 1998).

**Lo studio di casi** viene usato per favorire l'attività di gruppo. A ciascun gruppo viene dato un caso e si chiede di risolverlo e analizzarlo. I risultati dovranno essere riportati in sessioni di **relazione**. Queste permettono ai piccoli gruppi di scambiare informazioni con l'intera classe. Ad ogni gruppo individuale è richiesto di "difendere" la propria conclusione (Wallerstein & Rubenstein, 1992).

Con il **role-play** una situazione viene drammatizzata piuttosto che semplicemente descritta. Il role-play incoraggia i partecipanti ad applicare la loro conoscenza e sviluppare abilità comunicative.

**Gli esercizi al computer** possono essere usati per familiarizzare con i vari software. Per esempio Epi-Info è un software gratuito che può essere utilizzato per elaborare testi, inserire dati, effettuare calcoli statistici ed analisi epidemiologiche più complesse (Dean *et al.*, 1990). Nel software sono inclusi moduli di apprendimento e di tutoraggio.

I partecipanti possono essere coinvolti anche in un breve **progetto sul campo** per prendere visione dell'applicazione dei metodi epidemiologici (es. condurre uno studio) o di particolari condizioni ambientali o occupazionali. Per esempio, una visita ad un'azienda locale potrebbe prevedere un sopralluogo, un meeting con lo staff preposto all'igiene aziendale ed incontri con gli operai e i dirigenti. Al termine della visita può essere organizzata una discussione ("*panel discussion*") per valutare l'adequatezza dei programmi aziendali di sanità e sicurezza.

Esistono testimonianze sul fatto che siano meglio recepiti i pacchetti di autoapprendimento dell'epidemiologia piuttosto che lezioni o seminari (Gehlbach *et al.*, 1985). Questi pacchetti permettono ai partecipanti di seguire il proprio ritmo di apprendimento, focalizzarsi su argomenti di interesse, scegliere dove e quando studiare. I pacchetti di autoapprendimento sono di tipo cartaceo o informatico. Per esempio, il Centers for Disease Control (CDC) americano ha utilizzato moduli cartacei per gli operatori impegnati sul territorio, ma ha anche elaborato un documento informatico per illustrare un approccio allo studio delle epidemie ("Pharyngitis in Louisiana"). Sono in corso di sviluppo altri moduli. L'OMS e la London School of Hygiene (Huttly & Sterne, 1993; Corvalan *et al.*, 1996) hanno sviluppato moduli introduttivi di autoapprendimento per Epi-Info. Vi è poi EPITROP, un corso computerizzato in epidemiologia e biostatistica, che ha valore di corso di ripasso per studenti che hanno già completato i corsi di epidemiologia, ma che possono aver dimenticato molto di ciò che hanno appreso (Liefoghe, De Muynck & Van der Stuyft, 1993). Inoltre sono state registrate lezioni su nastri audio o video per integrare i programmi didattici e fornire istruzione continuativa.

Altri metodi di formazione a distanza si sono dimostrati positivi (Ostbye, 1989), come teleconferenze e collegamenti televisivi via satellite.

### **Valutazione e monitoraggio**

Il fine della valutazione di un'attività formativa è di determinare fino a che punto sono stati perseguiti gli obiettivi prefissati. E' necessario effettuare un monitoraggio fra i partecipanti per valutare il progresso, i contenuti e l'efficacia della formazione.

Per esempio, le valutazioni possono riguardare:

- il grado di raggiungimento degli obiettivi dichiarati del workshop o delle attese personali;
- l'utilità o l'interesse delle presentazioni;
- l'adeguatezza dei materiali d'insegnamento relativamente a: linguaggio, contenuto, livello e lunghezza;
- l'organizzazione e gli aspetti amministrativi del workshop (es. se i libri distribuiti erano sufficientemente aggiornati, se la sala era adeguata, se c'è stato tempo sufficiente per le pause e le domande).

Una valutazione della conoscenza acquisita dai partecipanti può essere fatta in sede d'esame. GEENET, per esempio, usa test di valutazione preliminari e successivi per determinare la capacità dei partecipanti a spiegare 20 concetti di epidemiologia o igiene ambientale (WHO, 1994a). E' stato sviluppato un questionario valutativo con il software Epi-Info; le risposte possono essere inserite in un file dati l'ultimo giorno del workshop, come esempio di utilità del software. I risultati possono essere usati in una sessione valutativa come base per discutere i punti di forza e di debolezza del workshop, oltre che per proporre future modifiche.

E' difficile determinare come valutare al meglio l'efficacia a lungo termine della formazione. E' possibile intraprendere un follow-up valutativo per determinare se i partecipanti hanno applicato le loro nuove conoscenze al loro lavoro (per es. organizzando nuovi studi) o se sono stati motivati a cercare un livello di formazione più avanzato.

La conoscenza e le capacità si perdono presto se non vengono messe in pratica. Si dovrebbe operare uno sforzo per incoraggiare l'applicazione delle tecniche. Il follow-up in termini di workshop o contatti periodici (posta, telefono, e-mail) può aiutare a sostenere il livello di interesse e delle tecniche.

### **Consigli pratici**

Insegnanti esperti dei workshop GEENET hanno contribuito ai consigli pratici della Teacher's guide for one-week training workshop: basic environmental epidemiology (WHO, 1994a).

Si evidenzia che gli insegnanti dovrebbero:

- conoscere il loro auditorio;
- organizzare preventivamente spazio, tempo e logistica;
- distribuire libri e materiale in anticipo;
- provvedere al feedback - far conoscere agli studenti il livello raggiunto;
- incoraggiare gli studenti a fare domande;
- essere vivaci ed evitare la voce monotona;
- cambiare il passo della dizione senza parlare né troppo veloce, né troppo lentamente;
- intrattenere utilizzando storie ed esempi;
- usare una varietà di metodologie didattiche;
- lasciare un tempo sufficiente per le domande;
- rivestire il ruolo della guida, di un modello da cui trarre ispirazione;
- valutare la necessità di traduttori;
- curarsi delle tecniche di presentazione.

Lucidi, diapositive e grafici sono metodi visivi che possono aiutare a focalizzare l'attenzione, stimolare l'interesse per gli argomenti discussi ed illustrare fattori difficili da visualizzare. I lucidi possono essere sovrapposti per aggiungere o togliere componenti di grafici complessi. (Un set di tabelle e grafici da presentare tramite lucidi è incluso nella *Teacher's Guide - 2° edition - for basic epidemiology*

logy (WHO, 1994a). Ogni ausilio visivo dovrebbe presentare solo un punto chiave, dovrebbe avere dimensioni sufficienti per essere visto e letto con facilità, non dovrebbe contenere più di 36 parole (o sei righe). Se vengono usati ausili audiovisivi si deve stare attenti a parlare all'auditorio, e non al mezzo.

### **Conclusioni**

L'insegnante alle prime armi, riluttante o inesperto, è incoraggiato ad espandere i suoi orizzonti oltre la ricerca ambientale. Pochi epidemiologi sono stati insegnanti eccellenti. Le tecniche didattiche si possono tuttavia sviluppare, se si è disposti ad investire tempo, sacrificio e pratica.

Elevando la qualità di insegnamento dell'epidemiologia si farà in modo che i problemi di salute pubblica vengano considerati non solo come obiettivi di ricerca, ma anche come problemi sociali che possono richiedere soluzioni sociali. In tal modo l'insegnante potrà trarre soddisfazione dal contributo dato al processo per mezzo del quale gli obiettivi di ricerca di epidemiologia ambientale che oggi ancora non sono stati raggiunti saranno adeguatamente affrontati, sia in laboratorio che nella comunità, dalla prossima generazione di epidemiologi specificamente formati.

### **12.4 Obiettivi futuri dell'epidemiologia ambientale**

L'epidemiologia ambientale continuerà ad agire guidata da nuovi strumenti analitici, da rischi emergenti e dalla percezione pubblica dei rischi derivanti dalle esposizioni ambientali. Il summit mondiale tenutosi a Rio de Janeiro nel 1992 ha identificato un numero di problemi ambientali del pianeta che, in futuro, saranno oggetto di ulteriori indagini epidemiologiche: l'inquinamento atmosferico, la riduzione dell'ozono troposferico, la contaminazione delle riserve di acqua potabile, le discariche di rifiuti pericolosi, le radiazioni elettromagnetiche e le pratiche agricole con effetti ambientali nocivi. L'epidemiologo ambientale sarà sempre più chiamato a valutare gli impatti delle esposizioni ambientali combinate. I passi in avanti della ricerca richiederanno lo sviluppo di mezzi epidemiologici più rigorosi e una valutazione più sofisticata su modelli statistici. E', inoltre, necessario un approfondimento su argomenti meno appariscenti e non necessariamente relativi al cancro, come ad esempio i deficit di apprendimento, che fino ad oggi sono stati tenuti fuori dalla ricerca epidemiologica principale. In particolare, gli epidemiologi sono impegnati nella sfida rappresentata dall'identificazione di indicatori precoci di malattia (Cohen & Gordis, 1993).

Il sovraccarico planetario - potenzialmente causato dalla crescita demografica e dal degrado ecologico - potrebbe minacciare i sistemi vitali di supporto che sostengono l'ambiente globale (McMichael, 1993). Inoltre, l'introduzione di nuove tecnologie e l'uso crescente di tecnologie potenzialmente a rischio, quali la produzione di pesticidi, creano conflitto fra lo sviluppo economico o tecnologico e la difesa della qualità dell'ambiente. Questo può essere particolarmente vero nei paesi in via di sviluppo dove può accadere che non vengano utilizzati metodi comprovati di controllo dei rischi ambientali a causa della limitata consapevolezza dei rischi stessi.



## APPENDICE 12.1 LIBRI E RIVISTE DI EPIDEMIOLOGIA AMBIENTALE

### Libri di epidemiologia ambientale

*Topics in environmental epidemiology.*

Steenland K & Savitz D (1997) New York: Oxford University Press.

*Environmental epidemiology.*

Kopfler FC & Craun GF, ed. (1986) Chelsea, Michigan: Lewis Publishers.

*Introduction to environmental epidemiology.*

Talbott E & Graun G (1995) Boca Raton: Lewis Publishers.

*Environmental epidemiology.*

Leaverton PE, Mass TL & Simches SO (1982) New York: Praeger.

*Environmental epidemiology and risk assessment.*

Aldrich T & Griffith J (1993) New York: Van Nostrand Reinhold.

*Environmental epidemiology: epidemiologic investigation of community environmental health problems.*

Goldsmith JR, ed. (1986) Boca Raton, Florida: CRC Press.

*Environmental epidemiology. Volume 1: public health and hazardous wastes.*

Committee on Environmental Epidemiology, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Science, National Research Council (1991) Washington, DC: National Academy Press.

*Environmental epidemiology: exposure and disease.*

Bertollini R *et al.*, ed. (1996) Boca Raton: CRC Press/Lewis Publishers.

### Libri di igiene del lavoro e igiene ambientale

*Chemical hazards of the workplace, 4th edition.*

Proctor NH & Hughes JP (1996) New York: Van Nostrand Reinhold.

*Encyclopaedia of occupational health and safety, 4th edition.*

Stellman JM, ed. (1998) Geneva: International Labour Office.

*Environmental and occupational medicine, 3rd edition.*

Rom WN (1998) Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.

*A practical approach to occupational and environmental medicine, 2nd edition.*

McCunney RJ (1996) Boston: Little, Brown and Company.

*Occupational and environmental medicine, 2<sup>nd</sup> edition.*

LaDou J (1997) Stamford: Appleton & Lange.

*Textbook of clinical occupational and environmental medicine.*

Rosenstock L & Cullen M, ed. (1994) Philadelphia: Saunders.

*Principles and practice of environmental medicine.*

Tarcher AB (1992) New York: Plenum Medical Books.

## Libri di tossicologia

*Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons, 5th edition.*  
Klaassen CD, Amdur MO & Doull J, ed. (1996) New York: McGraw-Hill.

*Hamilton and Hardy's industrial toxicology, 4th edition.*  
Finkel AJ (1983) Boston: Wright PSG, Inc.

WHO *Environmental health criteria series*.  
Now consists of more than 150 publications regarding the toxicity of various agents.  
Geneva: International Programme on Chemical Safety (IPCS).

WHO *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*,  
Now consists of more than 70 publications on the carcinogenicity of various agents.  
Lyon: IARC (International Agency for Research on Cancer).

## Principali riviste

*American journal of epidemiology*  
*American journal of industrial medicine*  
*American journal of public health*  
*Archives of environmental health*  
*British journal of industrial medicine*  
*Environmental health perspectives*  
*Journal of exposure analysis and environmental epidemiology*  
*Journal of occupational medicine and environmental medicine*  
*International journal of epidemiology*  
*Scandinavian journal of work, environment and health*  
*WHO bulletin*

## Alcuni riferimenti in italiano

*Epidemiologia Moderna: un'introduzione.*  
traduzione di *Introduction to modern epidemiology*, di A. Ahlbom e S. Norell. Edizione italiana a cura di G. Mozzarella, Il Pensiero Scientifico Editore, Roma 1993.

*Epidemiologia per Discipline Bio-mediche.*  
traduzione di *Primer of Epidemiology*, di Gary D. Friedman. Edizione italiana a cura di Laetitia Sebastiani Annichiarico Petruzzelli, McGraw-Hill Libri Italia srl, Milano 1998.

*Guida allo studio dell'epidemiologia e della biostatistica.*  
traduzione di *A Study Guide to Epidemiology and Biostatistics*, di Richard F. Morton e J. Richard Hebel. Edizione italiana a cura di T. Del Campo, Edizioni Libreria Cortina, Verona 1988.

IARC; *Il cancro: cause frequenza controllo*, a cura di Lorenzo Tomatis, Garzanti 1991

Si segnalano inoltre:

due portali  
[www.epidemiologia.it](http://www.epidemiologia.it), dell'Associazione italiana di epidemiologia;  
[www.epicentro.it](http://www.epicentro.it), Portale di Epidemiologia a cura dell'ISS.

la rivista:  
"Epidemiologia & Prevenzione", rivista dell'Associazione italiana di epidemiologia, a cura di ZADIG editore.

## GLOSSARIO

### Capitolo 1

**Effetto** – qualsiasi cambiamento dello stato di salute o nella funzione corporea che può essere imputato a un'esposizione ad un fattore di rischio ambientale.

**Epidemiologia ambientale** – studio della distribuzione degli stati o eventi correlati alla salute in specifiche popolazioni in relazione a determinanti/rischi presenti nel loro ambiente di vita e l'applicazione di questo studio al controllo dei rischi.

**Esposizione** – concentrazione di un agente nell'ambiente che entra in contatto con la porzione esterna del corpo umano.

**Fattore di rischio (hazard)** – termine qualitativo che esprime la potenzialità di un agente ambientale di causare un danno per la salute.

**Misura di effetto** – variabile epidemiologica che descrive cambiamenti nell'esperienza di una popolazione.

**Rischio** – probabilità (quantitativa) che possa verificarsi un effetto sulla salute in seguito ad una specifica esposizione ad una fonte di pericolo.

**Sviluppo sostenibile** – uno sviluppo che soddisfa i bisogni del presente senza compromettere la possibilità che generazioni future riescano a soddisfare i propri bisogni.

### Capitolo 2

**Cluster** – pattern spaziale e temporale dell'incidenza o prevalenza di un effetto sanitario superiore rispetto a quanto atteso nella popolazione.

**Consenso informato** – dovere di informare ciascun potenziale partecipante ad uno studio sui possibili rischi e benefici legati alla partecipazione.

**Dose** – la quantità di un certo agente ambientale che entra nel corpo.

**Dose a livello di organo bersaglio** – la quantità di agente che raggiunge l'organo o tessuto suscettibile all'interno del corpo.

**Dose-risposta** – relazione (generalmente rappresentata mediante una curva) tra l'aumento della dose e il rischio di effetto sanitario nella popolazione esposta.

**Esposizione** – concentrazione di un agente nell'ambiente che entra in contatto con la porzione esterna del corpo umano.

**Fattore di rischio (hazard)** – termine qualitativo che esprime la potenzialità di un agente ambientale di causare un danno per la salute.

**Latenza** – intervallo di tempo tra l'inizio del processo della malattia e la manifestazione clinica, in genere misurato come intervallo di tempo tra esposizione e sviluppo della malattia clinicamente evidente.

**Marcatore biologico (biomarker)** – qualsiasi parametro misurabile di tipo biochimico, fisiologico o biologico ottenibile da tessuti, fluidi, gas umani, che si associa con l'esposizione ad un inquinante ambientale.

**Rischio** – probabilità (quantitativa) che possa verificarsi un effetto sulla salute in seguito ad una specifica esposizione ad una fonte di pericolo.

**Valutazione del rischio (risk assessment)** – processo quantitativo che consiste nello stimare il rischio (presente o futuro) in una popolazione utilizzando informazioni derivanti da studi su animali, sperimentali o di popolazione.

**Utilitarismo** – teoria etica secondo cui un'azione dovrebbe basarsi sul principio di ottenere il massimo beneficio per il maggior numero possibile di persone.

### Capitolo 3

**Cieco** – misura fatta quando il soggetto in studio o i ricercatori non sono al corrente dello stato della persona studiata per quanto riguarda l'esposizione o la malattia.

**Confondente** – un fattore di rischio indipendente di malattia che si distribuisce in maniera differente tra soggetti esposti e non esposti e che, se non controllato, determina un errore nella stima dell'effetto dell'esposizione sulla malattia.

**Differenza tra rischi** – differenza tra i rischi medi di malattia di due gruppi di persone.

**Differenza tra tassi** – differenza tra i tassi di malattia di due gruppi di persone.

**Doppio cieco** - misura fatta quando sia il soggetto in studio che i ricercatori non sono al corrente dello stato della persona studiata per quanto riguarda l'esposizione o la malattia.

**Frequenza di malattia** – quantificazione del verificarsi della malattia che prevede un conteggio delle persone ammalate.

**Incidenza cumulativa** – sinonimo di proporzione di incidenza.

**Modificazione dell'effetto** – modificazione della stima dell'effetto di un fattore di rischio da parte dell'esposizione ad un altro fattore di rischio.

**Odds** – rapporto tra il numero di persone di un certo gruppo che hanno avuto un evento e il numero di quelli dello stesso gruppo che non hanno avuto l'evento.

**Odds ratio** – rapporto di due odds.

**Popolazione a rischio** – parte della popolazione che è “a rischio” di una certa malattia; in genere si tratta dell'intera popolazione, tranne coloro che hanno già la malattia.

**Popolazione dello studio** – popolazione studiata dopo essere stata campionata dalla popolazione di riferimento. Equivale alla popolazione di riferimento in uno studio di coorte. E' invece un campione di casi e non casi della popolazione di riferimento in uno studio caso-controllo.

**Popolazione di riferimento** – particolare popolazione a rischio da cui viene campionata la popolazione dello studio.

**Precisione** – la stabilità della stima di effetto, che è indicata dall'ampiezza del suo intervallo di confidenza.

**Prevalenza** – proporzione di una certa popolazione che ha la malattia in questione in un determinato momento.

**Proporzione di incidenza** – proporzione di una certa popolazione che sviluppa la malattia in questione durante un certo intervallo di tempo.

**Rapporto tra rischi** – rapporto tra i rischi medi di malattia di due gruppi di persone.

**Rapporto tra tassi** – rapporto tra i tassi di malattia di due gruppi di persone.

**Rischio** – probabilità di sviluppare la malattia in studio in un certo intervallo di tempo. Il rischio si misura in una popolazione per mezzo della proporzione di incidenza (rischio cumulativo).

**Rischio relativo** – termine generale che indica il rapporto tra tassi, il rapporto tra rischi o l'odds ratio.

**Stima dell'effetto** – stima dell'effetto di un fattore sullo sviluppo di una malattia o di un infortunio, ad esempio il rischio relativo, il rapporto dei tassi di incidenza o l'odds ratio.

**Tasso** – numero di casi di nuova insorgenza divisi per il tempo-persona di osservazione.

## Capitolo 4

**Contaminante (inquinante)** – qualsiasi agente ambientale potenzialmente dannoso, in genere di tipo chimico, fisico o biologico.

**Dose** – la quantità di un certo agente ambientale che entra nel corpo.

**Dose biologicamente efficace** – dose a livello dell'organo bersaglio che è direttamente associata all'effetto biologico di un fattore di rischio con cui si è entrati in contatto.

**Dose interna** – quantità di una sostanza ambientale che viene effettivamente assorbita attraverso i polmoni o il tratto gastrointestinale.

**Emissione** – rilascio nell'ambiente di un inquinante ambientale da una fonte.

**Esposizione** – concentrazione di un agente nell'ambiente che entra in contatto con la porzione esterna del corpo umano.

**Esposizione additiva** – esposizione combinata a più di un fattore di rischio che può causare un effetto maggiore di quello dovuto a ciascuno dei due fattori se considerati in maniera isolata.

**Esposizione combinata** – esposizione a più di un fattore di rischio ambientale che causa un particolare effetto sulla salute.

**Esposizione esterna** – si tratta della stessa cosa dell'esposizione, ma in genere il termine viene usato per riferirsi alla presenza di un radionuclide (sostanza chimica che emette radiazioni ionizzanti) in mezzi esterni al corpo.

**Esposizione interna** – (termine utilizzato per le radiazioni ionizzanti) indica la concentrazione di un radionuclide che è entrato nel corpo (polmone o intestino) mediante inalazione o ingestione, ma che non è stato assorbito nel corpo.

**Esposizione totale (esposizione integrata)** – la somma di tutta l'esposizione ad un fattore di rischio ambientale attraverso diverse vie di esposizione e in diversi pattern spaziali e temporali.

**Inquinamento dell'aria** – inquinamento dell'aria esterna in generale.

**Inquinamento dell'aria esterna** – presenza di contaminanti potenzialmente tossici nell'aria esterna.

**Inquinamento dell'aria interna (indoor)** – presenza di contaminanti potenzialmente tossici nell'aria all'interno di edifici o case.

**Limite di rilevabilità** – la quantità (concentrazione) minima di un agente nocivo che può essere rilevata con affidabilità utilizzando uno specifico strumento di misura.

**Macro-ambiente** – ambiente complessivo in una comunità, regione o nazione.

**Marcatore biologico (biomarker)** – qualsiasi parametro misurabile biochimico, fisiologico o biologico ottenibile da tessuti, fluidi, gas umani, che si associa con l'esposizione ad un inquinante ambientale.

**Matrici ambientali** – mezzi attraverso i quali possono venir trasmessi inquinanti ambientali, come aria, acqua, cibo o il terreno.

**Micro-ambiente** – ambiente in un determinato posto e momento attraverso il quale una persona può venir esposta a degli inquinanti ambientali.

**Misurazione dell'esposizione personale** – misurazione individuale quantitativa di un'esposizione ambientale.

**Modello deterministico** – modello che descrive la relazione tra variabili (esposizioni) basato sulla conoscenza dei meccanismi fisici, chimici e/o biologici che governano tali relazioni.

**Modello di esposizione integrato** – modello per stimare l'esposizione totale ad un contaminante mediante la combinazione di variabili relative a pattern di tempo-attività e dati di misurazioni microambientali.

**Modello ibrido** – modello che descrive la relazione tra variabili mediante una combinazione di approcci riconducibili al modello deterministico e di altri riconducibili a quello stocastico.

**Modello stocastico** – modello che esprime la relazione statistica tra un determinante dell'esposizione e l'esposizione stessa, dedotta a partire da dati raccolti in situazioni simili.

**Pattern di tempo-attività** – registrazione delle attività e collocazione di una persona in diversi momenti.

**Studio con dieta duplicata** – studio in cui vengono raccolti ed analizzati duplicati esatti di tutti i cibi e le bevande consumate dai soggetti per ricercarne i contaminanti.

**Studio con paniere** – studio in cui vengono preparati e analizzati campioni di cibo di quelli che, secondo dati di consumo di comunità o nazionali, sono i principali costituenti della dieta, per valutare la presenza di contaminanti e a volte anche il valore nutrizionale.

**Tossicocinetica (farmacocinetica)** – modello del movimento e della biotrasformazione di un contaminante assorbito all'interno del corpo, considerando fattori come l'assorbimento, il metabolismo, la distribuzione, l'accumulo e l'escrezione.

**Variabile surrogata** – variabile che correla con la concentrazione di un contaminante e può essere usata come alternativa per stimare l'esposizione al contaminante.

## Capitolo 5

**Coefficiente di variazione (deviazione standard percento)** – misura della variazione di una variabile continua pari alla deviazione standard divisa per il valore medio.

**Dati primari** – dati raccolti specificamente per uno studio.

**Dati secondari** – dati che sono stati raccolti per altri scopi (ad esempio clinici) ma vengono usati per uno studio.

**Definizione di caso** – set di criteri per decidere se un individuo debba essere classificato quale avente la condizione di interesse o meno.

**Dose-risposta** – relazione tra la dose di un agente tossico e la proporzione di persone esposte che sviluppano uno specifico effetto sanitario.

**Effetti acuti sulla salute** – effetti sulla salute che si verificano entro un tempo che va da pochi minuti a giorni dopo l'esposizione.

**Incubazione** – periodo di tempo tra l'esposizione e la manifestazione della malattia; negli studi epidemiologici corrisponde alla latenza; in genere si usa riferito alle malattie infettive.

**Iperreattivi** – individui sensibili che sviluppano lo stesso effetto che ci si sarebbe atteso in altre persone, ma in maniera più accentuata, oppure in cui l'effetto si manifesta ad una dose inferiore rispetto a quella della maggior parte della popolazione.

**Ipersensibile** – persona che sviluppa una reazione allergica a certe sostanze (allergeni).

**Latenza** – periodo di tempo tra l'inizio della malattia e la sua manifestazione, in genere si usa riferito alle malattie croniche.

**Malattia notificabile** – condizione o malattia che deve essere notificata ad un'autorità di sanità pubblica o governativa.

**Malattie croniche** – malattie con danno tissutale non riparabile che conduce ad una compromissione dello stato di salute.

**Suscettibilità** – essere a rischio più alto di sviluppare un effetto sanitario in seguito ad un'esposizione rispetto alla popolazione generale, generalmente a causa di una predisposizione genetica.

**Tossicità** – capacità di un agente di danneggiare un organismo.

**Tossicità sub-clinica** – effetto fisiologico o patologico che non si manifesta come malattia clinica.

## Capitolo 6

**Campionamento caso-coorte** – campionamento dei controlli dalla popolazione di riferimento all'inizio del periodo di rischio in uno studio caso-controllo.

**Campionamento cumulativo** – negli studi caso-controllo è il campionamento dei controlli dalla popolazione di riferimento alla fine del periodo di rischio.

**Campionamento su base di popolazione** – campionamento casuale della popolazione di riferimento a prescindere dallo stato relativo all'esposizione o all'outcome.

**Casi (e controlli) ospedalizzati** – uso di pazienti ospedalizzati o cartelle cliniche come serbatoio per il campionamento dei soggetti per uno studio caso-controllo.

**Casi su base di popolazione** – uso di un'intera popolazione (solitamente in una regione geograficamente definita) come serbatoio per il campionamento dei casi negli studi caso-controllo.

**Density sampling** – campionamento dei controlli negli studi caso-controllo dalla popolazione di riferimento contemporaneamente al verificarsi degli eventi tra i casi durante il periodo di rischio.

**Errore sistematico (bias) ecologico** – bias in cui le associazioni a livello di gruppo non riflettono in maniera accurata le associazioni a livello individuale.

**Gruppo di confronto (gruppo di riferimento)** – il gruppo con cui viene confrontato il gruppo dei casi o di trattati (esposti) – in genere si tratta di un gruppo non esposto negli studi di coorte o in studi trasversali. Negli studi caso-controllo il gruppo di confronto viene di solito chiamato gruppo di controllo.

**Gruppo di confronto esterno** – gruppo di confronto scelto da una popolazione di riferimento più ampia di quella da cui proviene la popolazione esposta in uno studio di coorte.

**Gruppo di confronto interno** – gruppo di confronto selezionato dalla stessa popolazione di riferimento da cui proviene la popolazione esposta in uno studio di coorte.

**Misure aggregate** – variabili che indicano caratteristiche della popolazione, quali l'esposizione media ad un fattore di rischio ambientale, anziché caratteristiche individuali.

**Periodo di osservazione (follow-up o periodo di studio)** – tempo durante il quale la popolazione dello studio in uno studio di coorte è tenuta sotto osservazione.

**Prevalenza di periodo** – numero di casi esistenti (prevalenti) durante un determinato intervallo di tempo (pari ai casi prevalenti all'inizio dell'intervallo più i casi incidenti durante l'intervallo).

**Prevalenza puntuale** – numero di casi esistenti (prevalenti) ad un certo momento.

**Serie temporali** – studi ecologici (di gruppo) o di coorte (individuali) in cui l'associazione temporale tra un'esposizione che varia nel tempo e un outcome sanitario che varia nel tempo viene osservata nel tempo.

**Standardizzazione per età** – aggiustamento in fase di analisi che si applica quando si confrontano due o più popolazioni, per tener conto di differenze nelle strutture delle popolazioni secondo l'età.



**Studi prospettici** – studi in cui i dati sono raccolti durante il verificarsi degli eventi (esposizioni ed outcomes sanitari).

**Studi storici (retrospettivi)** – studi in cui i dati sono raccolti dopo che si sono verificati gli eventi di interesse (esposizioni e outcomes sanitari).

**Studio caso-controllo** – studio epidemiologico in cui i casi, che hanno sviluppato l'evento sanitario di interesse, e i non casi sono selezionati dal periodo di rischio (esperienza tempo-persona) della popolazione di riferimento.

**Studio di coorte** – studio epidemiologico in cui gli individui a rischio di sviluppare l'evento sanitario di interesse sono campionati dalla popolazione di riferimento e seguiti nel tempo (il periodo dello studio) per misurare il verificarsi dell'outcome sanitario.

**Studio di mortalità (morbosità) proporzionale** – studio epidemiologico in cui la distribuzione degli eventi sanitari (o delle esposizioni) viene confrontata con quella di un'altra popolazione senza ottenere informazioni circa le caratteristiche della popolazione di riferimento.

**Studio panel** – studio di coorte in cui la variazione dell'associazione tra un'esposizione e un esito sanitario viene misurata ripetutamente nel corso del tempo di osservazione.

**Studio sperimentale** – studio in cui gli investigatori determinano chi sarà esposto o trattato.

**Trial clinici randomizzati** – studi sperimentali in cui i soggetti (o gruppi) sono assegnati casualmente ai gruppi di trattamento e di controllo.

**Trial di comunità** – studio sperimentale in cui comunità o gruppi di popolazione simili sono allocati a gruppi di trattamento (esposizione) e controllo.

**Unità d'analisi** – unità di osservazione al cui livello sono misurati e analizzati l'esposizione e l'outcome sanitario – solitamente si tratta di un gruppo (studio ecologico) o di un individuo (ad esempio negli studi di coorte, caso-controllo e trasversali).

## Capitolo 7

**Confondente** – fattore di rischio di malattia che, se non controllato, causa un errore nella stima dell'effetto di un'altra esposizione.

**Curva esposizione-risposta (curva dose-risposta)** – grafico che illustra una misura del verificarsi di un outcome sanitario (ad esempio il tasso di malattia) in relazione a diversi livelli di esposizione.

**Dati categoriali** – variabili nominali o ordinali.

**Deviazione standard** – una misura della variabilità dei dati.

**Distribuzione discreta** – una distribuzione che può avere solo particolari valori (non continua).

**Errore standard** – stima della deviazione standard della media; si calcola dividendo la deviazione standard per la radice quadrata del numero di osservazioni.

**Intervallo di confidenza** – gamma di valori della stima di effetto all'interno della quale si pensa che si trovi l'effetto vero, con un particolare livello di confidenza.

**Misura di variabilità** – stima dell'entità della variazione di una misura per il solo effetto del caso, se la misura venisse ripetuta molte volte.

**Modificatore di effetto** – fattore che modifica l'effetto di un altro fattore di rischio.

**Modificazione di effetto** – si verifica quando la stima di effetto si modifica in base al livello di un altro fattore di rischio.

**Multicollinearità** – instabilità di una stima di effetto dovuta ad una forte correlazione di una variabile con una o più altre variabili.

**Odds ratio di incidenza** – rapporto tra l'odds di sviluppare un outcome sanitario in un gruppo (in genere gli esposti) e l'odds di sviluppare l'outcome in un altro gruppo (in genere i non esposti).

**Precisione** – la stabilità di una stima di effetto, riflessa nell'ampiezza del suo intervallo di confidenza.

**Regressione di Poisson** – modello matematico in cui il logaritmo del tasso di incidenza viene modellato come una combinazione lineare di un insieme di fattori di rischio; si usa nell'analisi di studi di coorte.

**Regressione logistica** – modello matematico in cui il logaritmo dell'odds viene modellato come combinazione lineare di un insieme di fattori di rischio; viene usata nell'analisi di studi caso-controllo.

**Stima di effetto** – stima dell'effetto di un fattore su una malattia, ad esempio il rapporto tra i rischi, il rapporto tra i tassi o l'odds ratio.

## Capitolo 8

**Consenso informato** – modulo di consenso scritto (talvolta orale) usato per trasmettere a ciascun partecipante informazioni sullo studio proposto.

**Cronogramma** – elenco grafico o tabulare delle attività dello studio in base al tempo necessario per condurre le diverse fasi.

**Fase preparatoria** – fase iniziale dello studio durante la quale vengono perfezionati i metodi dello studio, che in genere comprende l'addestramento del personale, il pretest degli strumenti e la pianificazione degli aspetti logistici.

**Garanzia della qualità (Quality assurance)** – processo finalizzato a garantire l'accuratezza e la precisione delle misure dello studio e la condotta complessiva dello studio.

**Protocollo** – documento scritto che descrive i metodi dello studio, il personale, il budget e l'organizzazione.

**Protocollo dei soggetti umani** – protocollo scritto che descrive la partecipazione di soggetti umani nello studio, facendo presenti i potenziali rischi e benefici e le procedure che verranno seguite per salvaguardare i loro interessi.

**Pulizia dei dati** – insieme di procedure volte a garantire che le variabili dello studio siano state registrate e inserite in computer correttamente.

**Studio multicentrico** – studio che coinvolge numerose popolazioni e diversi centri di ricerca che collaborano secondo un protocollo di studio comune e uniscono i dati per l'analisi.

**Studio pilota** – piccolo studio condotto seguendo i metodi dello studio completo per valutare la fattibilità e l'appropriatezza dello studio proposto.

**Studio principale** – la raccolta di dati, che spesso richiede che il personale dello studio lavori “sul campo” o nella comunità.

**Valutazione della fattibilità** – processo per valutare se è fattibile condurre uno studio considerando la disponibilità di popolazione da studiare e la logistica.

## Capitolo 9

**Meta-analisi** – analisi quantitativa dei risultati combinati di diversi studi individuali su un argomento correlato, condotta ai fini di consentire un'interpretazione riassuntiva unitaria.

## Capitolo 10

**Cluster di malattia** – il verificarsi di una malattia (effetto sanitario) secondo un pattern spaziale e temporale più frequente di quanto ci si sarebbe aspettati.

**Definizione di caso** – set standard di criteri per decidere se un individuo debba essere classificato quale a rischio di risultare esposto e quale avente la condizione di interesse.

**Monitoraggio ambientale** – programma sistematico per misurare le concentrazioni ambientali di agenti che destano preoccupazione, come pure di fattori associati che possono influenzare le esposizioni.

**Registro delle esposizioni** – sistema per raccogliere e mantenere informazioni per documentare l'esposizione ambientale a specifici contaminanti per particolari popolazioni.

**Valutazione di Sanità pubblica** – processo per valutare dati ed informazioni sul rilascio nell'ambiente di sostanze nocive per stimare l'impatto presente e futuro sulla salute della comunità, per formulare delle raccomandazioni e per identificare quali possibili studi o azioni possano servire per misurare o prevenire gli effetti avversi per la salute delle persone.

**Sorveglianza di Sanità pubblica** – raccolta, analisi e interpretazione sistematica e continua di dati sanitari essenziali per la pianificazione, l'implementazione e la valutazione di attività di sanità pubblica, strettamente intergrate con la disseminazione tempestiva di tali dati.

## Capitolo 11

**Equità ambientale (giustizia ambientale)** – consiste nell'obiettivo di garantire un'adeguata protezione dai pericoli ambientali a tutte le persone, a prescindere da età, gruppo etnico, sesso, stato di salute, classe sociale o razza.

**Identificazione del fattore di rischio** – processo mediante il quale si determina se l'esposizione ad un agente ambientale sia associata o meno ad un effetto avverso per la salute.

**Valutazione di impatto (dell'ambiente) sulla salute** – processo analitico per predire e valutare l'impatto di un certo sviluppo (attività proposta) sui fattori ambientali correlati alla salute.

**Valutazione del rischio (risk assessment)** – uso di una base scientifica per caratterizzare i potenziali effetti avversi dell'esposizione umana a fattori di rischio ambientale.

## **Capitolo 12**

**GEENET** – Global Environmental Epidemiology Network – rete mondiale di epidemiologi ambientali coordinata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

**Sviluppo formativo (empowerment education)** – educazione che mira a coinvolgere persone in attività di gruppo per identificare i problemi, per analizzarne criticamente le radici culturali e socioeconomiche, e per sviluppare delle strategie per attuare dei cambiamenti positivi finalizzati alla loro risoluzione.

## BIBLIOGRAFIA

- "Atlas" (1987) *Atlas of cancer mortality in the People's Republic of China*. Shanghai, China: China Map Press.
- Abramson JH (1992) Teaching epidemiology in and out of the classroom. In: Olsen J & Trichopoulos D, ed. *Teaching epidemiology: what you should know and what you could do*. New York: Oxford University Press.
- Adams RM (1990) *Occupational skin disease. 2nd edition*. Philadelphia: Saunders.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1988) *The nature and extent of lead poisoning in the United States: a report to Congress*. Atlanta, Georgia: ATSDR.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1990) *Health assessment guidance manual*. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1992a) *Case studies in environmental medicine: lead toxicity*. Atlanta, GA: U.S. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry .
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1992b) *Public health assessment guidance manual*. Chelsea, Michigan: Lewis Publishers.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1992c) *Proceedings of the National Minority Health Conference: focus on environmental contamination*. Princeton, New Jersey: Princeton Scientific Publishing Co.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1993) *National exposure registry trichloroethylene (TCE) subregistry baseline technical report*. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service (NTIS PB93-209187).
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1994) *National exposure registry policies and procedures manual (revised)*. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1997) *Draft toxicological profile for lead*. Atlanta, GA: U.S. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Ahlbom A (1993) *Biostatistics for epidemiologists*. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers.
- Aldrich T & Griffith J (1993) *Environmental epidemiology and risk assessment*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Aldrich T et al. (1990) *CLUSTER: user's manual for software to assist with investigations of rare health events*. Atlanta, Georgia: Agency for Toxic Substances and Disease Registries (ATSDR).
- American Thoracic Society (ATS) (1995) Standardization of spirometry, 1994 update. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 152:1107-1136.
- Ames BN (1979) Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science* 204:587-593.
- Antò JM & Sunyer J (1990) Epidemiologic studies of asthma epidemics in Barcelona. *Chest*, 185S-190S.
- Antò JM et al. (1989) Community outbreaks of asthma associated with inhalation of soybean dust. *New England journal of medicine*, 320:1097-1102.
- Annstrong B (1993) *Study design for exposure assessment in epidemiological studies*. Working paper presented at WHO Consultation on methodology for assessment of exposure to environmental factors in application to epidemiological studies, Stockholm, August.
- Armstrong BK et al. (1992) *Principles of exposure assessment in epidemiology*. Oxford: Oxford University Press.
- Asp DB & Schlesinger ER (1956) The conclusion of a ten-year study of water fluoridation. *American journal of public health*, 46:265-271.
- Axelsson O (1985) The "case-control" study: valid selection of subjects. *Journal of chronic diseases*, 38:553-555.

- Badii MH *et al.* (1994) Una metodologia sencilla para la evaluación del impacto ambiental. *Calidad ambiental*, 1(9):18-21.
- Baghurst PA *et al.* (1992) Environmental exposure to lead and children's intelligence at the age of seven years. *New England journal of medicine*, 327:1279-1284.
- Bailar JC & Smith EM (1986) Progress against cancer? *New England journal of medicine*, 314:126-132.
- Baker DB, Loo S & Barker J (1991) Evaluation of human exposure due to the heptachlor epoxide contamination of milk in Hawaii. *Hawaii medical journal*, 50: 108-118.
- Baker DB *et al.* (1988) A health study of two communities near the Stringfellow waste disposal site. *Archives of environmental health*, 43:325-334.
- Baker F (1990) Risk communication about environmental hazards. *Journal of public health policy*, 11:341-357.
- Baker RJ & Nelder JA (1978) *Generalized linear interaction modeling (GLIM)*, release 3. Oxford: Numerical Algorithms Group.
- Baker SR & Williamson CF, eds. (1990) *The effects of pesticides on human health. Advances in modern environmental toxicology*, vol 18. Princeton, NJ: Princeton Scientific.
- Baris YI *et al.* (1978) An outbreak of pleural mesotheliomas and chronic fibrosing pleurisy in the village of Karain. *Thorax*, 33:181-192.
- Bates DV & Sizto R (1987) Air pollution and hospital admissions in Southern Ontario: the acid summer haze effect. *Environmental research*, 43:317-331.
- Bates DV, Baker-Anderson M & Sizto R (1990) Asthma attack periodicity: a study of hospital emergency visits in Vancouver. *Environmental research*, 51 :51-70.
- Beaglehole R, Bonita R & Kjellstrom T (1993) *Basic epidemiology*. Geneva: World Health Organization (available in 20 languages through WHO Publication Office).
- Bean JA *et al.* (1982a) Drinking water and cancer incidence in Iowa. I. Trends and incidence by source of drinking water and size of municipality. *American journal of epidemiology*, 116:912-923.
- Bean J A *et al.* (1982b ) Drinking water and cancer incidence in Iowa. II. Radioactivity in drinking water. *American journal of epidemiology*, 116:924-932.
- Beauchamp TL *et al.* (1991) Ethical guidelines for epidemiologists. *Journal of clinical epidemiology*, 44 (suppl. 1):151S-169S.
- Bellinger D *et al.* (1987) Longitudinal analyses of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive development. *The New England journal of medicine*, 316:1037-1043.
- Bertazzi P A, Pesatori AC & Zocchetti C (1992) The Seveso accident. In: Elliott P *et al.*, ed. *Geographical and environmental epidemiology -methods for small-area studies*. Oxford: Oxford University Press, pp. 342-358.
- Bertazzi PA *et al.* (1989) Ten-year mortality study of the population involved in the Seveso incident in 1976. *American journal of epidemiology*, 129:1187-1200.
- Bhopal RS *et al.* (1991) Proximity of the home to a cooling tower and risk of non-outbreak Legionnaires' disease. *British medical journal*, 302:378-383.
- BMDP (1979) *Biomedical computer programs P-series (BMDP-79)*. Berkeley, California: University of California Press.
- Bobadilla JL *et al.* (1993) The epidemiologic transition and health priorities. In: Jamison DT *et al.*, ed. *Disease control priorities in developing countries*. New York: The World Bank, Oxford University Press, pp. 51-66.
- Bouchardy C *et al.* (1993) Cancer risks among European migrants in Sao Paulo, Brazil. *European journal of cancer*, 29A(10):1418-1423.
- Brenner H *et al.* (1992) The effects of non-differential exposure misclassification in ecological studies. *American journal of epidemiology*, 135:85-95.
- Breslow NE & Day NE (1980) *Statistical methods in cancer research, volume 1 - the analysis of case-control studies*. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Breslow NE & Day NE (1987) *Statistical methods in cancer research, volume 2 - the design and analysis of cohort studies*. Lyon: International Agency for Research on Cancer.

- Briggs D, Corvalan C & Nurminen M, ed. (1996) *Linkage methods for environment and health analysis: general guidelines*. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/EHG/95.26).
- Brunekreef B *et al.* (1983) Blood lead levels of Dutch city children and their relationship to lead in the environment. *Journal of the air pollution control association*, 33:872-876.
- Buell P & Dunn JE (1965) Cancer mortality among Japanese Issei and Nisei of California. *Cancer*, 18:656.
- Calabrese EJ *et al.* (1989) How much soil do young children ingest: an epidemiologic study. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 10:123-137.
- Canter (1989) *Environmental risk assessment and management: a literature review*. Metepec, Mexico: Pan American Center for Human Health and Ecology, Pan American Health Organization, World Health Organization. .
- Carson R (1962) *Silent spring*. Boston: Houghton Mifflin. Cambridge, Massachusetts: Riverside Press.
- Castillejos M *et al.* (1992) Effects of ambient ozone on respiratory function and symptoms in Mexico City schoolchildren. *American review of respiratory diseases*, 145:276--282.
- Centers for Disease Control (CDC) (January 1988) *CDC surveillance update*. Atlanta, Georgia: Centers for Disease Control.
- Centers for Disease Control (CDC) (1990) Guidelines for investigating clusters of health events. *Morbidity and mortality weekly report*, 39:1-23.
- Centers for Disease Control (CDC) (1992) *Principles of epidemiology: an introduction to applied epidemiology and biostatistics*, 2nd edition. Atlanta, Georgia: Dept. Of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Centers for Disease Control.
- Chalmers TC, Frank CS & Reitman D (1990) Minimizing the three stages of publication bias. *Journal of the American Medical Association*, 263:1392-1395.
- Chalmers TC *et al.* (1981) A method for assessing the quality of a randomized control trial. *Controlled clinical trials*, 2:31-49.
- Checkoway HA, Pearce NE & Crawford-Brown DJ (1989) *Research methods in occupational epidemiology*. New York: Oxford University Press.
- Chen BH *et al.* (1990) Indoor air pollution in developing countries. *World health statistics quarterly*, 43(3):127-138.
- Chen C-J & Wang C-J (1990) Ecological correlation between arsenic level in well water and age-adjusted mortality from malignant neoplasms. *Cancer research*, 50:5470-5474.
- Chen C-J *et al.* (1985) Malignant neoplasms among residents of a blackfoot disease-endemic area in Taiwan: high-arsenic artesian well water and cancers. *Cancer research*, 45:5895-5899.
- Cohen AJ & Gordis L (1993) Introduction to the Health Effects Institute Environmental Planning Project documents. *Environmental health perspectives*. 101 (suppl. 4): 15-17.
- Coniglio W A, Berger PS & Cotruvo JA (1992) Water pollution and chemical contamination in drinking water. In: Tarcher AB, ed. *Principles and practice of environmental medicine*. New York: Plenum Medical Book Company.
- Corvalan C & Kjellström T (1995) Health and environment analysis for decision making. *World health statistics quarterly*, 48:71-7
- Corvalan C, Inskip H & Driscoll T (1996) *Epi-Info teaching modules*. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/EHG/96.15).
- Coughlin S (1997) *Ethics in epidemiology and public health practice: collected works*. Columbus, GA: Quill Publications.
- Coughlin S & Beauchamp TL (1996) *Ethics and epidemiology*. New York : Oxford University Press.
- Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) (1991) *International guidelines for ethical review of epidemiological studies*. Geneva: CIOMS.
- Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) (1993) *International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects*. Geneva: CIOMS.
- Craighead JE (1995) Airways and lung. In: Craighead JE, ed. *Pathology of environmental and occupational disease*. St. Louis: Mosby- Year Book, Inc.

- Czeizel AE *et al.* (1993) Environmental trichlorfon and cluster of congenital abnormalities. *Lancet*, 341 :539-542.
- Dales RE *et al.* (1989) Respiratory health of a population living downwind from natural gas refineries. *American review of respiratory diseases*, 139:595-600.
- Davis DL *et al.* (1990) International trends in cancer mortality in France, West Germany, Italy, Japan, England and Wales, and the USA. *Lancet*, 336:474-481.
- De Konig H (1989) *Setting environmental standards: guidelines for decision-making*. Geneva: World Health Organization.
- Dean AD *et al.* (1990) *EPI-INFO, version 5. A word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers*. Atlanta: Centers for Disease Control.
- DerSimonian R & Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. *Controlled clinical trials*, 7:177-188.
- Dickersin K (1990) The existence of publication bias and risk factors for its occurrence. *Journal of the American Medical Association*, 263:1385-1389.
- Dickersin K & Berlin JA (1992) Meta-analysis: state-of-the-science. *Epidemiologic reviews*, 14:154-176.
- Dickersin K, Min YI & Meinert CL (1992) Factors influencing publication of research results: follow-up of applications submitted to two institutional review boards. *Journal of the American Medical Association*, 267:374-378.
- Dijkstra L *et al.* (1990) Respiratory health effects of the indoor environment in a population of Dutch children. *American review of respiratory disease*, 142: 1172-1178.
- Dockery DW & Pope CA (1994) Acute respiratory effects of particulate air pollution. *American review of public health*, 15:107-132.
- Dockery DW *et al.* (1993a) Air pollution and daily mortality: associations with particulates and acid aerosols. *Environmental research*, 59:362-373.
- Dockery DW *et al.* (1993b) An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *The New England journal of medicine*, 329(24):1753-1759.
- Doll R & Peto R (1981) *The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risk of cancer in the United States today*. New York: Oxford University Press.
- Dorsch MM *et al.* (1984) Congenital malformations and maternal drinking water supply in rural South Australia: a case-control study. *American journal of epidemiology*, 119:473-486.
- Dosman JA *et al.* (1991) Effect of cold air on the bronchial response to inhaled histamine in patients with asthma. *American review of respiratory disease*, 144:45-50.
- Drews CD & Greenland S (1990) The impact of differential recall on the results of case-control studies. *International journal of epidemiology*, 19:1107-1112.
- Duncan RC, Griffith J & Konefal J (1986) Comparison of plasma cholinesterase depression among workers occupationally exposed to organophosphorus pesticides as reported by various studies. *Journal of toxicology and environmental health*, 18: 1-11.
- Easterbrook PJ *et al.* (1991) Publications bias in clinical research. *Lancet*, 337:867-872.
- Eaton DL *et al.* (1998) Genetic susceptibility. In: Rom W, ed. *Environmental and occupational medicine, 3rd edition*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, pp. 209-221.
- Fagiano J *et al.* (1990) Drinking water contamination and the incidence of leukaemia: an ecologic study. *American journal of public health*, 80:1209-1212.
- Fayerweather WE, Higginson J & Beauchamp TL, ed. (1991) Industrial Epidemiology Forum's conference on ethics in epidemiology. *Journal of clinical epidemiology*, 44(suppl. 1):1S-169S.
- Federal Register (1991) *Vol 56. No. 110. Maximum contaminant level goals and national primary drinking water regulations for lead and copper, Final Rule* [56 FR 26460].
- Feinstein AR (1989) Para-analysis, faute de mieux, and the perils of riding on a data barge. *Journal of clinical epidemiology*, 42:929-935.
- Ferris BG (1978) Epidemiology Standardization Project (American Thoracic Society). *American review of respiratory disease*, 118(6 pt.2):1-120.



- Feychting M & Ahlbom A (1995) Childhood leukemia and residential exposure to weak extremely low frequency magnetic fields. *Environmental health perspectives*, 103 Suppl 2:59- 62.
- Feychting M *et al.* (1995) Magnetic fields and childhood cancer-a pooled analysis of two Scandinavian studies. *European journal of cancer* , 31A:2035-2039.
- Fiore BJ, Hanrahan LP & Anderson HA (1990) State health department response to disease cluster reports: a protocol for investigations. *American journal of epidemiology*, 132:S14-S22.
- Fischbein A (1998) Occupational and environmental exposure to lead. In: Rom W, ed. *Environmental and occupational medicine, 3rd edition*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, pp. 973-996.
- Fischer P *et al.* (1986) Indoor NO<sub>2</sub> pollution and personal exposure to NO<sub>2</sub> in two areas with different outdoor NO<sub>2</sub> pollution. *Environmental monitoring and assessment*, 6:221-230.
- Fischhoff B *et al.* (1993) Risk perception and communication. *Annual review of public health*, 14:183-203.
- Flatt A *et al.* (1990) Reduced selenium status in asthmatic subjects in New Zealand. *Thorax*, 5:95-99.
- Fleiss JL & Gross AJ (1991) Meta-analysis in epidemiology, with special reference to studies of the association between exposure to environmental tobacco smoke and lung cancer: a critique. *Journal of clinical epidemiology*, 44:127-139.
- Fraser DW (1979) The story of Legionnaires' disease. *Proceedings of the institute of Medicine of Chicago*, 32:118.
- Fraser DW (1987) Epidemiology as a liberal art. *New England journal of medicine*, 316:309-314.
- Fraser DW *et al.* (1977) Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *New England journal of medicine*, 297: 1189-1197.
- Friberg L *et al.*, ed. (1986) *Cadmium and health, vol. II*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Gardner MJ & Altman DG (1986) Confidence intervals rather than p values: estimation rather than hypothesis testing. *British medical journal*, 292:746-750.
- Gehlbach SH (1988) *Interpreting the medical literature: practical epidemiology for clinicians, 2nd edition*. New York: Macmillan.
- Gehlbach SH *et al.* (1985) Epidemiology for medical students: a controlled trial of three teaching methods. *International journal of epidemiology*, 14:178-181.
- Gergen PJ, Mulla IY & Evans R (1988) National survey of prevalence of asthma among children in the United States, 1976 to 1980. *Pediatrics*, 81(1):1-7.
- Geschwind SA *et al.* (1992) Risk of congenital malformations associated with proximity to hazardous waste sites. *American journal of epidemiology*, 135:1197-1207.
- Giroult (1984) The health component of environmental impact assessment. *Conference on Environmental Health Impact Assessment*, November 1984, Adana, Turkey.
- Goldberg SJ *et al.* (1990) An association of human congenital cardiac malformations and drinking water contaminants. *Journal of the American College of Cardiology*, 16:155-164.
- Goldman L & Feinstein AR (1979) Anticoagulants and myocardial infarction. The problems of pooling, drowning and floating. *Annals of internal medicine*, 90:92-94.
- Goldsmith JR (1988) *Environmental epidemiology: epidemiological investigation of community environmental health problems*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Greenberg RS & Daniels SR (1993) *Medical epidemiology*. Norwalk, Connecticut: Appleton & Lange.
- Greenland S (1979) Limitations of the logistic analysis of epidemiologic data. *American journal of epidemiology*, 110:693-698.
- Greenland S (1987a) Interpretation and choice of effect measures in epidemiologic analyses. *American journal of epidemiology*, 125:761-768.
- Greenland S (1987b) Quantitative methods in the review of epidemiologic literature. *Epidemiologic reviews*, 9:1-30.
- Greenland S & Morgenstern H (1989) Ecological bias, confounding, and effect modification. *International journal of epidemiology*, 18:269-274.

- Greenland S & Robins JM (1985) Confounding and misclassification. *American journal of epidemiology*, 122:495-506.
- Greenland S & Robins JM (1986) Identifiability, exchangeability, and epidemiological confounding. *International journal of epidemiology*, 15:412-418.
- Greenland S & Salvani A (1990) Bias in the one-step (peto) method for pooling study results. *Statistics in medicine*, 9:247-252.
- Gregg NA (1941) Congenital cataract following German measles in the mother. *Transactions of the Ophthalmological Society of Australia*, 3:35-46.
- Griffith J & Duncan RC (1985) Alkyl phosphate residue values in the urine of Florida citrus fieldworkers compared to the National Health and Nutrition Study (HANES) sample. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 34:210--215.
- Griffith J, Duncan RC & Hulke BS (1989) Biochemical and biological markers: implications for epidemiologic studies. *Archives of environmental health*, 44(6):375-381.
- Griffith J *et al.* (1989) Cancer mortality in U.S. counties with hazardous waste sites and ground water pollution. *Archives of environmental health*, 44(2):69-74.
- Hall JM *et al.* (1990) Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science*, 250 (4988):1684-1689.
- Halperin W (1992) Chapter 1. In: Halperin W & Baker EL, ed. *Public health surveillance*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Hammond E, Selikoff I & Seidman H (1979) Asbestos exposure, cigarette smoking, and death rates. *Annals of the New York Academy of Science*, 33:473-489.
- Hancock T (1993) The evolution, impact and significance of the healthy cities/healthy communities movement. *Journal of public health policy*, Spring:5-17.
- Hanley AJ, Choi BC & Holowaty EJ (1995) Cancer mortality among Chinese migrants: a review. *International journal of epidemiology*, 24:255-265.
- Hatch M & Thomas D (1993) Measurement issues in environmental epidemiology. *Environmental health perspectives*, 101 (suppl. 4):49-57.
- Hayes RB *et al.* (1986) Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses, and formaldehyde exposure. *International journal of cancer*, 37:487-492.
- Hayes WJ Jr. (1982) *Pesticides studied in man*. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Hazucha MJ *et al.* (1992) Effects of steady-state and variable ozone concentration profiles on pulmonary function. *American review of respiratory disease*, 146:1487-1493.
- Hemberg S (1992) *Introduction to occupational epidemiology*. Chelsea, Michigan: Lewis Publishers.
- Herrinton LJ *et al.* (1994) Ovarian cancer incidence among Asian migrants to the United States and their descendants. *Journal of the National Cancer Institute*, 86(17):1336-1339.
- Herrinton LJ *et al.* (1996) The incidence of non-Hodgkin's lymphoma and its histologic subtypes in Asian migrants to the United States and their descendants. *Cancer causes and control*, 2:224-230.
- Hetherington J *et al.* (1989) Retrospective and prospective identification of unpublished controlled trials: lessons from a survey of obstetricians and pediatricians. *Pediatrics*, 84:374-380.
- Hill AB (1965) The environment and disease: association or causation? *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 58:295-300.
- Hulka BS, Wilcosky TC & Griffith JD, ed. (1990) *Biological markers in epidemiology*. New York: Oxford University Press.
- Huttly S *et al.* (1993) *Basic statistical computing with EPI-INFO*. London: London School of Hygiene and Tropical Medicine.
- Institute of Medicine (IOM) (USA) (1988) Committee for the Study of the Future of Public Health. *A vision of public health in America: an attainable ideal*, Washington, DC: Institute of Medicine.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1980) *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. volume 23: Some metals and metal compounds*. Lyon: World Health Organization.

- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1987) *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, supplement 7: Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs, volumes 1 to 42*. Lyon: World Health Organization.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1991) *IARC Monographs Programme on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemical to Humans. Chlorinated drinking-water; chlorination by-products; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds. Volume 52*. Lyon, France: IARC.
- International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, Inc. (IAMFES) (1979) *Procedures to investigate waterborne illness*. Ames, Iowa: IAMFES.
- International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, Inc. (IAMFES) (1983) *Procedures to investigate arthropod-borne and rodent-borne illness*. Ames, Iowa: IAMFES.
- International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, Inc. (IAMFES) (1988) *Procedures to investigate foodborne illness, 4th edition*. Ames, Iowa: IAMFES.
- International Commission on Radiation Protection (ICRP) (1975) *Task Group on Reference Man*. Oxford: Pergamon Press.
- International Programme Chemical Safety (IPCS) (1983) *Environmental health criteria, no.27. Guidelines on studies in environmental epidemiology*. Geneva: World Health Organization.
- International Programme Chemical Safety (IPCS) (1994) *Principles for the assessment of risk from exposure to chemicals*. Geneva: World Health Organization.
- Ishimaru M & Ishimaru T. (1975) A review of 30 years of study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors. II. Biological effects. D. Leukaemia and related disorders. *Journal of radiation research*, 16:89-96.
- Jaakkola JJK, Tuomaala P. & Seppanen O. (1994) Air recirculation and sick building syndrome: a blinded crossover trial. *American journal of public health*, 84:422-428.
- Jaakkola JJK *et al.* (1990) The South Karelia air pollution study. The effects of malodorous sulfur compounds from pulp mills on respiratory and other symptoms. *American review of respiratory diseases*, 142:1344-1350.
- Jarvis M *et al.* (1984) Biochemical markers of smoke absorption and self reported exposure to passive smoking. *Journal of epidemiology and community health*, 38:335-339.
- Jedrychowski W *et al.* (1990) A case-control study of lung cancer with special reference to the effect of air pollution in Poland. *Journal of epidemiology and community health*, 44:114-120.
- Kahn HA & Sempas CT (1989) *Statistical methods in epidemiology*. New York: Oxford University Press.
- Katsouyanni K *et al.* (1993) Evidence for interaction between air pollution and high temperature in the causation of excess mortality. *Archives of environmental health*, 48:235-242.
- Kattan M *et al.* (1997) Characteristics of inner-city children with asthma: the National Cooperative Inner-City Asthma Study. *Pediatric Pulmonology*, 24:253-62.
- Kelsey JL *et al.* (1996) *Methods in observational epidemiology, 2nd edition*. New York: Oxford University Press.
- Khoury MJ, Beaty TH & Cohen BH (1994) *Fundamentals of genetic epidemiology*. New York: Oxford Press, 1994.
- Kinzler KW *et al.* (1991) Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science*, 253 (5020):661-665.
- Kjellström T (1986) Effects on bone, on vitamin D and calcium metabolism. In: Friberg L *et al.*, ed. Cadmium and health. vol. II. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Kjellström T & Corvalan C (1995) Framework for the development of environmental health indicators. *World health statistics quarterly*, 48:144-157.
- Kleinbaum DG, Kupper LL & Morgenstem H (1982) *Epidemiologic research principles and quantitative methods*. Belmont, California: Lifetime Learning Publications.

- Kleinbaum DG, Kupper LL & Muller KE (1988) *Applied regression analysis and other multivariable methods*. Boston: PWS-Kent Publishing Company.
- Kondo S, Ito M (1996) Seasonal variation in the circadian rhythm of pulmonary function in stable asthmatic children who have nearly outgrown their asthma. *Chronobiology international*, 13:295-303.
- Kreiger N *et al.* (1994) Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black and Asian women. *Journal of the National Cancer Institute*, 86(8):589-599.
- Kreimer A & Munasinghe M (1991) *Managing natural disasters and the environment*. Washington, DC: Environment Department, The World Bank.
- Kreiss K *et al.* (1981) Cross-sectional study of a community with exceptional exposure to DDT. *Journal of the American Medical Association*, 245(19): 1926-1930.
- Krokan HE *et al.* (1990) DNA repair in mammalian tissues and cells. *Basic life sciences*, 53:173-190.
- Krzyzanowski M, Quackenboss JJ & Lebowitz MD (1992) Relation of peak expiratory flow rates and symptoms to ambient ozone. *Archives of environmental health*, 47:107-115.
- Kuberk PB & Robillard PD (1993) Communicating drinking water health risk: an information system that may help the process. *Journal of environmental health*, 55(5):24-26.
- Kunst AE, Looman CWN & Mackenbach JP (1993) Outdoor air temperatures and mortality in the Netherlands: a time-series analysis. *American journal of epidemiology*, 137:331-341.
- Lacey *et al.* (1985) Lead in water, infant diet and blood: the Glasgow Duplicate Diet Study. In: *The science of the total environment*, volume 41. Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
- Laird NM & Mosteller F (1990) Some statistical methods for combining experimental results. *International journal of technology assessment in health care*, 6:5-30.
- Lancet (1981) Seveso after five years (editorial). *Lancet*, 2(8249):731-2.
- Landis SH *et al.* (1999) Cancer statistics, 1999. *Ca: a Cancer Journal for Clinicians*, 49:8-31.
- Landrigan PJ (1994) Use of human data in risk assessment. In: *Principles for the assessment of risk from exposure to chemicals*. Geneva: International Programme for Chemical Safety, World Health Organization.
- Landrigan P J, Graham DG & Thomas RD (1994) Environmental neurotoxic illness: research for prevention. *Environmental health perspectives*, 102(2):117-120.
- Lang NP *et al.* (1994) Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P450-1A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps. *Cancer epidemiology, biomarkers and prevention*, 3 :675-82.
- Last J (1995) *A dictionary of epidemiology*, 3rd edition. Oxford: Oxford University Press.
- Lee (1992) *Proceedings of the First National People of Color Environmental Leadership Summit*. New York: United Church of Christ Commission for Racial Justice.
- Lenz W (1962) Thalidomide and congenital abnormalities (letter). *Lancet*, 7219:45-46.
- Liefoghe R, DeMuynck A & Van der Stuyft P (1993) *EPITROP -Individual computer assisted course in epidemiology and biostatistics*. Antwerp: Institute of Tropical Medicine.
- Lilienfeld DE & Stolley PD (1994) *Foundations of epidemiology*, 3rd edition. New York: Oxford University Press.
- Linn WS *et al.* (1985) Effects of heat and humidity on the responses of exercising asthmatics to sulfur dioxide exposure. *American review of respiratory disease*, 131:221-225.
- Lioy PJ (1990) Assessing total human exposure to contaminants. *Environmental science and technology*, 24:938-945.
- Liu C *et al.* (1993) Indoor air pollution and lung cancer in Guangzhou, People's Republic of China. *American journal of epidemiology*, 137(2):145-154.
- Loehr R & Lash J (1990) *Reducing risk: setting priorities and strategies for environmental protection*. Washington, DC: Environmental Protection Agency, Science Advisory Board.

- London SJ *et al.* (1991) Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukaemia. *American journal of epidemiology*, 134(9):923-937.
- Lowe CR & Kostrzewski J (1973) *Epidemiology: a guide to teaching methods*. London: Churchill Livingstone.
- Lower GM (1982) Concepts in causality: chemically induced human urinary bladder cancer. *Cancer*, 49: 1056-1066.
- Lubin JH (1994) Invited commentary: lung cancer and exposure to residential radon (comment). *American journal of epidemiology*, 140(4):323-332.
- Lwanga SK & Lemeshow S (1991) *Sample size determination in health studies -a practical manual*. Geneva: World Health Organization.
- Maes *et al.* (1991) The contribution of lead in drinking-water to levels of blood lead I: a cross-sectional study.
- Mantel N & Haenszel W (1959) Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 22:719-748.
- Markowitz S (1998) *Problem-based training exercises for environmental epidemiology*, 2nd ed. Geneva: World Health Organization.
- Marttila O *et al.* (1994) The South Karelia air pollution study: the effects of malodorous sulfur compounds from pulp mills on respiratory and other symptoms in children. *Environmental research*, 66:152-159.
- Matanoski G *et al.* (1992) Role of exposure databases in epidemiology. *Archives of environmental health*, 47:439-446.
- McBride WG (1961) Thalidomide and congenital abnormalities. *Lancet*, 2:1358.
- McMichael AJ (1976) Standardized mortality ratios and the "healthy worker effect": scratching beneath the surface. *Journal of occupational medicine*, 18(3):165-168.
- McMichael AJ (1993) *Planetary overload -global environmental change and the health of the human species*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Melia RJW *et al.* (1977) Association between gas cooking and respiratory disease in children. *British medical journal*, 275:149-152.
- Menzies R *et al.* (1993) The effect of varying levels of outdoor-air supply on the symptoms of sick building syndrome. *New England journal of medicine*, 328:821-827.
- Meselson (1980) The story of Agent Orange. *National geographic*, 157(2):145:82.
- Miettinen OS (1976) Estimability and estimation in case-referent studies. *American journal of epidemiology*, 103:226-235.
- Miettinen OS (1985) *Theoretical epidemiology-principles of occurrence research in medicine*. New York: John Wiley & Sons.
- Miller DG (1984) Cancer in Hiroshima: 35 years after the bomb. *Medical and pediatric oncology*, 12:224-227.
- Miller FJ *et al.* (1987) Evaluating the toxicity of urban patterns of oxidant gases. II. Effects in mice from chronic exposure to nitrogen dioxide. *Journal of toxicology and environmental health*, 21 :99-112.
- Mitchell H *et al.* (1997) Design and methods of the National Cooperative Inner-City Asthma Study. *Pediatric Pulmonology*, 24:237-52.
- Molfino NA *et al.* (1991) Effects of low concentrations of ozone on inhaled allergen responses in asthmatic subjects. *Lancet*, 338:199-203.
- Molhave L (1991) Volatile organic compounds, indoor air quality and health. *Indoor air*, 1:357-376.
- Molla AM *et al.* (1985) Rice-based oral rehydration solution decreases the stool volume in acute diarrhoea. *Bulletin of the World Health Organization*, 63:751-756.
- Montoya ME (1992) ¿Un nuevo modelo de comunicación en America Latina? Veracruz, Mexico: Fundación Manuel Buendía, Ed. Rotativa.
- Moogavkar SH & Knudson AG, Jr. (1981) Mutation and cancer: a model for human carcinogenesis. *Journal of the National Cancer Institute*, 66:1037-1052.

- Morgenstem H (1982) Uses of ecologic analysis in epidemiologic research. *American journal of public health*, 72:1336-1344.
- Morgenstem H & Thomas D (1993) Principles of study design in environmental epidemiology. *Environmental health perspectives*, 101(suppl. 4):23-38.
- Moschandreas DJ *et al.* (1993) Miniaturization and field testing of the total, isolated by micro-environment, exposure (time) sensor. In: Jantunen M *et al.*, ed. *Indoor Air '93, proceedings of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*. Helsinki.
- Muramatsu M *et al.* (1984) Estimate of personal exposure to tobacco smoke with a newly developed nicotine personal monitor. *Environmental research*, 35:218-227.
- Nahm *et al.* (1998) Seasonal variation of IgG subclass antibodies to house dust mite in sera from mite-sensitive asthmatic patients. *Annals of allergy, asthma, and immunology*, 80:411-5.
- Nakagawa H *et al.* (1990) High mortality and shortened life-span in patients with Itai-itai disease and subjects with suspected disease. *Archives of environmental health*, 45:283-287.
- National Center for Health Statistics (NCHS) (1989) *Current estimates from the National Health Interview Survey. Vital and health statistics; series 10, no.164*. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service (DHHS Publication No. (PHS)90-1504).
- National Research Council (NRC) (1981) *Indoor pollutants*. Washington, DC: National Academy Press.
- National Research Council, Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health (NRC) (1983) *Risk assessment in the federal government: managing the process*. Washington, DC: National Academy Press.
- National Research Council (NRC) (1986) *Environmental tobacco smoke: measuring exposures and assessing health effects*. Washington, DC: National Academy Press.
- National Research Council, Committee on Biological Markers (NRC) (1987) *Biological markers in environmental health research. Environmental health perspectives*, 74:3-9.
- National Research Council (NRC) (1991a) *Environmental epidemiology I. Public health and hazardous wastes*. Washington, DC: National Academy Press.
- National Research Council (NRC) (1991b) *Human exposure assessment for airborne pollutants - advances and opportunities*. Washington, DC: National Academy Press.
- Naylor CD (1988) Two cheers for meta-analysis: problems and opportunities in aggregating results of clinical trials. *Canadian Medical Association journal*, 138:891-895.
- Neas LM *et al.* (1991) Association of indoor nitrogen dioxide with respiratory symptoms and pulmonary function. *American journal of epidemiology*, 134:204-219.
- Neas LM *et al.* (1994) Concentration of indoor particulate matter as a determinant of respiratory health in children. *American journal of epidemiology*, 139(11):1088-1099.
- Needleman HL & Gatsonis CA (1990) Low level lead exposure and the IQ of children. *Journal of the American Medical Association*, 263:673-678.
- Ness G (1994) Urban metabolism. *Asian people and cities*, 16:7-10.
- Neutra R *et al.* (1992) Clusters galore: insights about environmental clusters from probability theory. *The science of the total environment*, 127:187-200.
- Nitta H *et al.* (1993) Respiratory health associated with exposure to automobile exhaust. I. Results of cross-sectional studies in 1979, 1982, and 1983 - *Archives of environmental health*, 48:53-58.
- Noy D *et al.* (1990) The assessment of personal exposure to nitrogen dioxide in epidemiologic studies. *Atmospheric environment*, 24A:2903-2909.
- Oakley GP, Jr. (1986) Frequency of human congenital malformations. *Clinics in perinatology*, 13:545-554.
- Olsen J & Trichopoulos D, ed. (1992) *Teaching epidemiology: what you should know and what you could do*. New York: Oxford University Press.
- Ostbye T (1989) An electronic extramural course in epidemiology and statistics. *International journal of epidemiology*, 18:275-279.

- Ostennan GA *et al.* (1990) Evaluation of the ATS respiratory diseases questionnaire among French-speaking silicon carbide workers. *Canadian journal of public health*, 81 :66-72
- Ostro BD *et al.* (1993) Air pollution and respiratory morbidity among adults in Southern California. *American journal of epidemiology*, 137:691-700
- Ozonoff D *et al.* (1987) Health problems reported by residents of a neighborhood contaminated by a hazardous waste facility. *American journal of industrial medicine*, 11 :581-597
- PAARC (1982) Pollution atmospherique et affections respiratoire chroniques ou a repetition. I. Methodes et materiel. *Bulletin Europeen de physiopathologie respiratoire*, 18:87-99
- Palmes ED *et al.* (1976) Personal sampler for NO<sub>2</sub>- *American Industrial Hygiene Association journal*, 37:570-577.
- Palmes ED *et al.* (1977) Average NO<sub>2</sub> concentrations in dwellings with gas or electric stoves. *Atmospheric environment*, 11 :869-872.
- Palmes ED *et al.* (1979) Relationship of indoor NO<sub>2</sub> concentrations to use of unvented gas appliances. *Journal of the Air Pollution Control Association*, 29:392-399-
- Parkin DM & Iscovich J (1997) Risk of cancer in migrants and their descendants in Israel: II- Carcinomas and genn-cell tumours. *International journal of cancer* , 70:645-660-
- Parkin DM & Khlat M (1996) Studies of cancer in migrants: rationale and methodology. *European journal of cancer*, 32A(5):761-771.
- Pearce NE (1989) Analytic implications of epidemiological concepts of interaction- *International journal of epidemiology*, 18:976-980.
- Pearce NE (1992) Methodological problems of time-related variables in occupational cohort studies- *Revue d'epedemiologie et de sante publique*, 40:S43-S54.
- Pearce NE & Checkoway H( 1987) A simple computer program for generating person-time data in cohort studies involving time-related factors. *American journal of epidemiology*, 125:1085-1091.
- Pearce NE, Checkoway HA & Dement JM (1988) Exponential models for analyses of time-related factors: illustrated with asbestos textile worker mortality data- *Journal of occupational medicine*, 30:517-522.
- Pearce NE *et al.* (1990) Follow-up study of New Zealand participants in United Kingdom atmospheric nuclear weapons tests in the Pacific. *British medical journal* 300:1161-1166-
- Perera F *et al.* (1987) DNA adducts, protein adducts and sister chromatid exchange in cigarette smokers and non-smokers- *Journal of the National Cancer Institute*, 79:449-456-
- Perera F *et al.* (1991) Biologic markers in risk assessment for environmental carcinogens. *Environmental health perspectives*, 90:247-254.
- Pershagen G *et al.* (1994a) Radon in dwellings and lung cancer. Smoking is more than an additional risk increasing factor. *Lakartidningen*, 91(49):4628-4632.
- Pershagen G *et al.* (1994b) Residential radon exposure and lung cancer in Sweden. *New England journal of medicine*, 330: 159-164.
- Petersen RC (1983) Bioeffects of microwaves: a review of current knowledge. *Journal of occupational medicine*, 25:103-111.
- Petitti D (1997) Meta-analysis and endocrinology. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 26:31-44.
- Pocock SJ *et al.* (1983) Effects of tap water lead, water hardness, alcohol and cigarettes on blood lead concentration. *Journal of epidemiology and community health*, 37: 1-7.
- Pope III CA (1991) Respiratory hospital admissions associated with PM<sub>10</sub> pollution in Utah, Salt Lake, and Cache Valleys. *Archives of environmental health*, 46(2):90-97.
- Pope III CA, Schwartz J & Ransom MR (1992) Daily mortality and PM<sub>10</sub> pollution in Utah valley. *Archives of environmental health*, 47:211-217.
- Pott P (1775) Cancer scroti. In: *The chirurgical works: of Percival Pott*. London: Hawes, Clarke and Collins, pp. 734-736.
- Puska P (1991) Intervention and experimental studies. In: Holland WW , Detels R & Knox G, ed. *Oxford textbook of public health, 2nd edition - volume 2: methods of public health*. Oxford: Oxford University Press, pp.177-188.

- Ramazzini B (Wright WC, translation) (1964) *De morbis artificum diatriba*, 1713. New York: Hafner .
- Restrepo I (1993) SSA: ¿fin a las irregularidades en Anaversa? *Lajornada*, March 8, pp 6ff.
- Riboli E *et al.* (1990) Exposure of non smoking women to environmental tobacco smoke: A 10 country collaborative study. *Cancer causes and control*, 1 :243-253.
- Robins JM & Greenland S (1986) The role of model selection in causal inference from nonexperimental data. *American journal of epidemiology*, 123:392-402.
- Rom W, ed. (1998) *Environmental and occupational medicine*, 3rd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, pp. 1157-1172.
- Romieu I *et al.* (1992) Air pollution and school absenteeism among children in Mexico City. *American journal of epidemiology*, 136:1524-1531.
- Rosenblatt KA, Weiss NS & Schwartz SM (1996) Liver cancer in Asian migrants to the United States and their descendants. *Cancer causes and control*, 3 :345-350.
- Rosenkranz HS (1998) Experimental and computational strategies for the rapid identification of environmental carcinogens. In: Rom W, ed. *Environmental and occupational medicine*, 3rd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, pp. 197-207.
- Rosenstock L & Cullen M, ed. (1994) *Textbook of clinical occupational and environmental medicine*. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Rosenstreich D L *et al.* (1997) *The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma*. New England Journal of Medicine 336:1356-63.
- Rosenthal R (1979) The file drawer problem and tolerance for null results. *Psychol bulletin*, 86:638-641.
- Rosner B (1986) *Fundamentals of biostatistics*, 2nd edition. Boston: Duxbury Press.
- Rossman TG (1998) Arsenic. In: Rom WN, ed. *Environmental and occupational medicine*, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, pp. 1011-1019.
- Rotem A& Abbatt FR (1982) *Self-assessment for teachers of health workers: how to be a better teacher*. Geneva: World Health Organization.
- Rothman KJ & Greenland S, ed. (1998) *Modern epidemiology*, 2nd edition. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott-Raven.
- Rothwell CJ *et al.* (1991) Identification of sentinel health events as indicators of environmental contamination: report of a consensus development conference. *Environmental health perspectives*, 94:261-263.
- Rylander E *et al.* (1995) Parental smoking, urinary cotinine, and wheezing bronchitis in children. *Epidemiology*, 6:289-293.
- Rylander R (1992) Effects on humans of environmental noise particularly from road traffic. In: Mage DT & Zali O (ed.) *Motor vehicle air pollution: public health impact and control measures*. Geneva: Canton of Geneva and World Health Organization.
- Samet JM (1989) Radon and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 81(10):745-757.
- Sandman PM (1991) Emerging communication responsibilities of epidemiologists. *Journal of clinical epidemiology*, 44(suppl.1):415-505.
- SAS (1988) *SAS procedures guide*. Cary, North Carolina: SAS Institute.
- Savitz DA, Pierce N & Poole C (1993) Update on methodological issues in the epidemiology of electromagnetic fields and cancer. *Epidemiologic reviews*, 15(2):588-666.
- Schenker MB *et al.* (1998) Pesticides. In: Rom W, ed. *Environmental and occupational medicine*. 3rd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, pp. 1157-1172.
- Schottenfeld D & Fraumeni J (1996) *Cancer epidemiology and prevention*. 2nd edition. New York: Oxford University Press.
- Schulte P A (1987) Methodologic issues in the use of biologic markers in epidemiologic research. *American journal of epidemiology*, 126(6):1006-1016.
- Schulte P A & Perera FP (1993) *Molecular epidemiology*. San Diego: Academic Press.
- Schwab M *et al.* (1990) Activity patterns applied to pollutant exposure assessment: data from a personal monitoring study in Los Angeles. *Toxicology and industrial health*, 6:517-532.



- Schwab M *et al.* (1991) Self-reported exertion levels on time/activity diaries: application to exposure assessment. *Journal of exposure analysis and environmental epidemiology*, 1 :339-356.
- Schwab M *et al.* (1993) Seasonal and yearly patterns of indoor nitrogen dioxide levels: data from Albuquerque, New Mexico. In: Jantunen M *et al.*, ed. *Indoor Air '93. proceedings of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*. Helsinki.
- Schwartz J (1989) Lung function and chronic exposure to air pollution: a cross-sectional analysis of NHANES II. *Environmental research*, 50(2):309-321.
- Schwartz J (1993) Air pollution and daily mortality in Birmingham, Alabama. *American journal of epidemiology*, 137:1136-1147.
- Schwartz J & Dockery DW (1992a) Particulate air pollution and daily mortality in Steubenville, Ohio. *American journal of epidemiology*, 135:12-19.
- Schwartz J & Dockery DW (1992b) Increased mortality in Philadelphia associated with daily air pollution concentrations. *American review of respiratory disease*, 145:600-604.
- Schwartz J & Marcus A (1990) Mortality and air pollution in London: a time series analysis. *American journal of epidemiology*, 131:185-194.
- Schwartz J, Angle C & Pitcher H (1986) Relationship between childhood blood lead levels and stature. *Pediatrics*, 77(3):281-288.
- Sears MR *et al.* (1991) Relation between airway responsiveness and serum 19E in children with asthma and in apparently normal children. *New England journal of medicine*, 325(15):1067-1071.
- Seidegard J *et al.* (1986) A glutathione transferase in human leukocytes as a marker for the susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis*, 7:751-753.
- Selvin S (1991) *Statistical analysis of epidemiological data*. New York: Oxford University Press.
- Sexton K & Anderson YB, ed. (1993) Equity in environmental health: research issues and needs. *Toxicology and industrial health*, 9(5).
- Sexton K & Ryan PB (1988) Assessment of human exposure to air pollution: methods, measurements and models. In: Watson A Y *et al.*, ed. *Air pollution, the automobile, and public health*. Washington, DC: National Academy Press.
- Sexton K, Letz R & Spengler JD (1983) Estimating human exposure to nitrogen dioxide: an indoor/outdoor modelling approach. *Environmental research*, 32(1 ): 151-166.
- Sexton K *et al.* (1992) Estimating human exposures to environmental pollutants: availability and utility of existing data bases. *Archives of environmental health*, 47:398-407.
- Shaw GM *et al.* (1992) Congenital malformations and birth weight in areas with potential environmental contamination. *Archives of environmental health*, 47(2):147-154.
- Shaw RA *et al.* (1992) The use of a videotaped questionnaire for studying asthma prevalence, a pilot study among New Zealand adolescents. *The medical journal of Australia*, 157:311-314.
- Sheppard D *et al.* (1984) Magnitude of the interaction between the bronchomotor effects of sulfur dioxide and those of dry (cold) air. *American review of respiratory disease*, 130:52-55.
- Shimizu Y, Kato H & Schull WJ (1990) Studies of the mortality of A-bomb survivors. 9. Mortality 1950-1985: Part 2. Cancer mortality based on recently revised doses (DS86). *Radiation research*, 121:120-141.
- Shimkin MB (1977) As memory serves -an informal history of the National Cancer Institute, 1937-57. *Journal of the National Cancer Institute*, 59(2 suppl.):559-600.
- Shore R (1998) Non-ionizing radiation. In: Rom W, ed. *Environmental & occupational medicine, 3rd edition*. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Simes RJ (1986) The case for an international registry of clinical trials. *Journal of clinical oncology*, 4:1529-1541.
- Simon R (1987) Overviews of randomized clinical trials. *Cancer treatment review*, 71:3-5.
- Sims J (1994) *Women. health & environment*. Geneva: World Health Organization.

- Singh NP *et al.* (1988) A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental cell research*, 175: 184-191.
- Singh NP *et al.* (1990) DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. *Mutation research*, 237:123-130.
- Sliney D (1995) *Ultraviolet radiation exposure dosimetry of the eye*. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/EHG/95.18).
- Snow J (1855) *On the mode of communication of cholera*. London, Churchill (reprinted in *Snow On cholera: a reprint of two papers*. New York: Hafner Publishing Company, 1965).
- Soskolne CL (1989) Epidemiology; questions of science, ethics, morality and law. *American journal of epidemiology*, 129:1-18.
- Soskolne CL, ed. (1993) Ethics and law in environmental epidemiology. *Journal of exposure analysis and environmental epidemiology*, 3(suppl. 1):297-320.
- Sparks PJ & Cooper M (1993) Risk characterization, risk communication, and risk management. The role of the occupational and environmental medicine physician. *Journal of occupational medicine*, 35(1): 13-17.
- Sparrow D *et al.* (1993) Predictors of the new onset of wheezing among middle-aged and older men. *American review of respiratory diseases*, 147:367-371.
- Stevens W *et al.* (1990) Leukaemia in Utah and radioactive fallout from the Nevada test site. *Journal of the American Medical Association*, 264(5):585-591.
- Sunyer J *et al.* (1989) Case-control study of serum immunoglobulin-E antibodies reactive with soybean in epidemic asthma. *Lancet*, i: 179-182.
- Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (1989) *Cancer statistics review 1973-1987*. Bethesda, Maryland: US Public Health Service, National Cancer Institute (DCPSC, NIH Pub. No.90-2789).
- Svensson C *et al.* (1989) Lung cancer in women and type of dwelling in relation to radon exposure. *Cancer research*, 49:1861-1865.
- Swanson GF, Ratcliffe HE & Fischer LJ (1995) Human exposures to polychlorinated biphenyls (PCBs): a critical assessment of the evidence for adverse health effects. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 21:136-150.
- Thacker (1989) Time-space clusters: the public health dilemma. *Health and environment digest*. 3(5):4-5.
- United Kingdom Ministry of Health (1954) *Mortality and morbidity during the London fog of December 1952*. London: Her Majesty's Stationery Office.
- United Nations (UN) (1992) *Agenda 21: programme of action for sustainable development*. New York: Department of Public Information.
- United Nations (UN) (1993) *Agenda 21. The United Nations programme for action from Rio*. New York: United Nations.
- United Nations Environment Programme & World Health Organization (UNEP/WHO) (1993) *GEMS/ AIR: global environment monitoring system: a global programme for urban air quality monitoring and assessment*. Geneva: World Health Organization.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1984) *Risk assessment and management: framework for decision making*. Washington, DC: United States Environmental Protection Agency (EP A1600/9-85/002).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1986) *Air quality criteria for lead*. Research Triangle Park, North Carolina: Environmental Criteria and Assessment Office (EP A1600/8-83/028).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1987) *U.S. cancer mortality rates and trends. 1950-1979. volume IV: maps*. Washington DC: U.S. Government Printing Office (EPA1600/1-83/015e).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1988) *Seven cardinal rules of risk communication*. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency (publication No. EPA-OPA-87-020).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1989a) *Workshop report on EPA guidelines for carcinogen risk assessment: use of human evidence*. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency (EP A1625/3-90/0 17).

- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1989b) Evaluation of the potential carcinogenicity of lead and lead compounds. In: *Support of reportable quantity adjustments pursuant to CERCLA Section 2*. Washington, DC: Office of Health and Environmental Assessment (EP A/600/8-89/045A).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1990) *Air quality criteria for lead: supplement to the 1986 addendum*. Research Triangle Park, North Carolina: Environmental Criteria and Assessment Office (EP A/600/8-89/049F).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1992a) *Respiratory health effects of passive smoking: lung cancer and other disorders*. Washington, DC: Office of Research and Development (EP A/600/6-90/006B).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1992b) *Environmental equity: reducing risk for all communities*. Washington, DC: Environmental Protection Agency (EPA 230-R-92-008).
- Van Hook RI (1978) Transport and transportation pathways of hazardous chemicals from solid waste disposal. *Environmental health perspectives*, 27:295-308.
- Vianna NJ & Polan AK (1984) Incidence of low birth weight among Love Canal residents. *Science*, 226:1217-1219.
- Vital Statistics (1998) *Vital statistics of the United States, 1995, preprint of volume II. Mortality*. Hyattsville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, National Center for Health Statistics.
- Walker ARP (1978) The relationship between bowel cancer and fiber content of the diet. *American journal of clinical nutrition*, 31 :S248-S251.
- Wallace LA (1987) *The total exposure assessment methodology (TEAM) study. Summary and analysis, volume 1*. Washington, DC: US Environmental Protection Agency (report EP A/600/6-87 /002a).
- Wallerstein N (1993) Empowerment and health: the theory and practice of community change. *Community development journal*, 28:218-227.
- Wallerstein N & Rubenstein HL (1992) *Teaching about job hazards*. Washington, DC: American Public Health Association.
- Wallerstein N & Weinger M (1992) Health and safety education for worker empowerment. *American journal of industrial medicine*, 22:619-635.
- Walss-Rodriguez RJ *et al.* (1990) Epidemiologia de los defectos congenitos del tubo neural en la ciudad de Torreón, Coahuila. *Revista medica del IMSS*, 28(5-6):265-268.
- Wartenberg D & Greenberg M (1992) Methodological problems in investigating disease clusters. *The science of the total environment*, 127:173-185.
- Washburn E *et al.* (1994) Residential proximity to electricity transmission and distribution nervous system tumours: systematic review, evaluation, and meta-analysis. *Cancer causes and control*, 5(4):299-309.
- Weatherley ML, Gooriah BD & Charnock J (1976) Fuel consumption, smoke and sulphur dioxide emissions and concentrations, and grit and dust deposition in the UK, up to 1973- 4. Stevenage, Hertfordshire: Warren Spring Laboratory.
- Weinstein IB (1991) Nonmutagenic mechanisms in carcinogenesis: role of protein kinase C in signal transduction and growth control. *Environmental health perspectives*, 93:175-179.
- Wemer D & Bower B (1982) *Helping health workers learn -a book of methods, aids and ideas for instructors at the village level*. Palo Alto, California: Hesperian Foundation.
- Wester RC & Maibach HI (1992) Disorders of the skin. In: Tarcher AB, ed. *Principles and practice of environmental medicine*. New York: Plenum Medical Book Company.
- WHO (1972) *Health effects of the human environment*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1976) *Environmental health criteria, no.1. Mercury*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1982) *Estimating human exposure to air pollutants*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1983) *Environmental health criteria, no.27. Guidelines to studies in environmental epidemiology*. Geneva: World Health Organization.

- WHO (1985) *Guidelines for the study of dietary intake of chemical contaminants*. Geneva: World Health Organization (GEMS: Pub. No.87).
- WHO (1986) *Epidemiology in occupational health*. Geneva: World Health Organization (WHO Regional Publications, European Series No.20).
- WHO (1987) *Air quality guidelines for Europe*. Copenhagen: World Health Organization.
- WHO (1989) *Assessment and management of environmental health hazards*. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/PEP/89.6; available on request from Office of Global and Integrated Environmental Health, World Health Organization, 1211 Genève 27, Switzerland).
- WHO (1990) *Environmental health criteria, no.101. Methyl mercury*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1991a) *Surface water drainage for low-income communities*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1991b) *Investigating environmental disease outbreaks; a training manual*. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/PEP/91.35).
- WHO (1992a) *Environmental health criteria, no.134. Cadmium*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1992b) Problem-based training exercises for environmental epidemiology. Group practice exercises for students. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/PEP/92.05).
- WHO (1992c) *Major poisoning episodes from environmental chemicals*. Geneva: World Health Organization (WHO/PEP/92.19).
- WHO (1992d) *Our planet, our health -report of the WHO Commission on Health and Environment*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1993a) *Guidelines for drinking-water quality*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1993b) *World health statistics annual*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1994a) *Basic environmental epidemiology. Teacher's guide for one-week training workshop*. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/EHG/94.1).
- WHO (1994b) *Environmental health criteria, no.160. Ultraviolet radiation; an authoritative scientific review of environmental and health effects of ultraviolet radiation, with reference to global ozone layer depletion*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1995) *Environmental health criteria. Inorganic lead*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (1997) *Health and environment in sustainable development. Five years after the Earth Summit*. Geneva: World Health Organization (unpublished document WHO/EHG/97).
- WHO (in press) Approaches to university curricula in environmental health. Geneva: World Health Organization.
- WHO/CEC (1989) *Health monitoring in the prevention of diseases caused by environmental factors*. Geneva: World Health Organization (WHO/PEP/89.23).
- Wiencke JK *et al.* (1990) Human glutathione S-transferase deficiency as a marker of susceptibility to epoxide-induced cytogenetic damage. *Cancer research*, 50: 1585-1590.
- Wijnen JH van *et al.* (1990) Estimated soil ingestion by children. *Environmental research*, 51:157-162.
- Wilcosky TC & Griffith JD (1990) Applications of biological markers, In: Hulka BS, Wilcosky TC & Griffith JC, ed. *Biological markers in epidemiology*. New York: Oxford University Press, pp. 16-27.
- Willet WC (1990) *Nutritional epidemiology*. Oxford: Oxford University Press.
- Winneke G *et al.* (1990) Results from the European multi-centre study on lead neurotoxicity in children: implications for risk assessment. *Neurotoxicology and teratology*, 12:553-559.
- Wolff MS, Rivera M & Baker DB (1991) Detection limits of organochlorine pesticides and related compounds in blood serum. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 7:499-503.

- Wolff MS *et al.* (1993) Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 85(8):648-652.
- World Commission on Environment and Development (1987) *Our common future*. Oxford: Oxford University Press.
- Xue J (1993) Alternative estimates of exposure to nitrogen dioxide and their implications to epidemiologic study design. In: Jantunen M *et al.*, ed. *Indoor Air '93, proceedings of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*. Helsinki.
- Yanagisawa Y & Nishimura H (1982) A badge type personal sampler for measurement of personal exposure to nitrogen dioxide. *Environment international*, 8:234-242.
- Yassi A *et al.* (1998) *Basic environmental health*. Geneva: World Health Organization.
- Yunis & Hoffman (1985) Birth of an errant cell: a new theory about the cause of cancer. *Minnesota magazine, special issue: the sciences*, Nov/Dec:28-33.